

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Μελέτη της ημερήσιας δραστηριότητας ενηλίκων
της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)
σε σχέση με την ηλικία και το διατροφικό περιβάλλον**



Βασίλης Ροδοβίτης

Γεωπόνος

Βόλος 2021

Μελέτη της ημερήσιας δραστηριότητας ενηλίκων
της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)
σε σχέση με την ηλικία και το διατροφικό περιβάλλον

Ροδοβίτης Βασίλειος

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Επιβλέπων:

Ν. Παπαδόπουλος, Καθηγητής Εφαρμοσμένης Εντομολογίας, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας (ΠΘ), Βόλος

Μέλη:

Χ. Αθανασίου, Καθηγητής Εντομολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (ΠΘ),
Βόλος

Ν. Τσιρόπουλος, Καθηγητής Αναλυτικής Χημείας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
(ΠΘ), Βόλος

Copyright © Ροδοβίτης Βασίλειος, 2021.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

Πρόλογος – Ευχαριστίες

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2019-2020, στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στο κείμενο που ακολουθεί, περιλαμβάνονται πληροφορίες για την ημερήσια δραστηριότητα της μύγας της Μεσογείου, την επιβίωση και την ωοπαραγωγή καθώς και την μεταβολή αυτών με την ηλικία. Αναφέρονται επίσης, τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές διαδικασίες, τα αποτελέσματα και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν.

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της Μεταπτυχιακής μου διατριβής κ. Ν. Θ. Παπαδόπουλο, για την επιλογή του θέματος, τις πολύτιμες συμβουλές κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και για τις διαφωτιστικές υποδείξεις και διορθώσεις στη συγγραφή του κειμένου της διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κ. Χ. Αθανασίου και κ. Ν. Τσιρόπουλο για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Ευχαριστώ τον καθηγητή του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας Davis, Dr J. R. Carey για την συνεισφορά του στο σχεδιασμό των πειραμάτων.

Επίσης, ευχαριστώ την ομάδα του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π. Θ. και ιδιαίτερα την μεταδιδακτορική ερευνήτρια κ. Σ. Παπαναστασίου για τις πολύτιμες συμβουλές, τις χρήσιμες υποδείξεις και την υπομονή της, κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και τη συγγραφή του κειμένου. Επίσης τον κ. Χ. Ιωάννου για τη τις ωφέλιμες συζητήσεις και υποδείξεις και την κ. Έφη Μπαντάκα για την βοήθεια στις στατιστικές αναλύσεις.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τα αδέρφια μου, την σύντροφό μου και τους φίλους μου, για τη διαρκή στήριξη και συμπαράσταση κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή μελετήθηκε η καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους, σε σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία 25 ± 1 °C και σχετική υγρασία 65 ± 5 %). Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο χώρο του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ.. Για την παρακολούθηση της δραστηριότητας των ενηλίκων χρησιμοποιήθηκε το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής LAM25system (Trikinetics). Για τις ανάγκες διατήρησης των εντόμων στο εσωτερικό των γυάλινων σωλήνων του συστήματος, αναπτύχθηκε και εφαρμόστηκε μία νέα τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε γέλη με βάση το άγαρ, που παρείχε στα ενήλικα επάρκεια θρεπτικών στοιχείων και νερού. Η νέα τροφή αξιολογήθηκε με δημογραφικά πειράματα. Χρησιμοποιήθηκαν σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες αρσενικά και θηλυκά της εργαστηριακής φυλής Μπενάκειο της μύγας της Μεσογείου.

Στην πρώτη πειραματική ενότητα (Κεφάλαιο 3), μελετήθηκε η επιβίωση και αναπαραγωγή των ενηλίκων όταν το νερό προσφέρονται από γέλη που παρασκευάστηκε με βάση το άγαρ. Δέκα αρσενικά και 10 θηλυκά διατηρήθηκαν για όλη την διάρκεια της ζωής τους σε κλουβιά Plexiglas και είχαν πρόσβαση σε καθένα από τι επτά διαφορετικές τροφές, στα οποία το νερό παρέχονταν είτε από γέλη, είτε από φιαλίδιο με φυτίλι. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι ανάγκες των ενηλίκων σε τροφή και νερό καλύπτονταν πλήρως από τη γέλη με βάση το άγαρ, όταν αυτή περιείχε ταυτόχρονα το νερό, τη ζάχαρη και την υδρολυμένη μαγιά (πρωτεΐνη), καθώς και όταν η γέλη παρείχε μόνο το νερό και τα θρεπτικά στοιχεία (ζάχαρη και πρωτεΐνη) παρέχονταν ξεχωριστά. Τα ενήλικα ήταν μακροβιότερα στις δύο αυτές δίαιτες που περιείχαν ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό. Τα συστατικά στην πρώτη δίαιτα ήταν σε μορφή γέλης και στη δεύτερη είχαν την μορφή της κλασσικής δίαιτας εκτροφής. Τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση μόνο σε ζάχαρη και πρωτεΐνη χωρίς παροχή νερού έζησαν σημαντικά λιγότερο. Επίσης, τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό (παροχή μέσω γέλης ή σε φιαλίδια με φυτίλι) εμφάνισαν τη μικρότερη επιβίωση σε σύγκριση με όλες τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις.

Στο Κεφάλαιο 4, εξετάστηκε η επίδραση δύο διαφορετικών τύπων ατομικών κλωβών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων σε συνδυασμό με την τροφή και την παροχή νερού. Τα ενήλικα (αρσενικά και θηλυκά) διατηρήθηκαν ατομικά, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους σε δύο τύπους κλωβιών. Ο πρώτος τύπος αποτελούταν από τον γυάλινο σωλήνα που χρησιμοποιήθηκε και στο LAM25system (Trikinetics) (Κεφ. 6), όπου εφαρμόστηκε η τροφή σε μορφή γέλης που περιείχε άγαρ, ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό. Ο δεύτερος τύπος κλωβιού ήταν το κλασικό ατομικό κλουβί δημογραφίας που χρησιμοποιείται συνήθως στο Εργαστήριο Εντομολογίας

του Π.Θ., το οποίο αποτελούταν από πλαστικό ποτήρι χωρητικότητας 400ml. Στα ατομικά κλουβιά εφαρμόστηκε η κλασική ημίρρευστη δίαιτα ενηλίκων που περιείχε, ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό σε αναλογία 4:1:3, ενώ το νερό παρέχόταν από φυτίλι. Τα διαφορετικά ατομικά κλουβιά δεν επηρέασαν την επιβίωση των ενηλίκων. Τα αρσενικά έζησαν σημαντικά περισσότερο από τα θηλυκά ανεξάρτητα από το μέσο διατήρησής τους. Τα μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης και για τα δύο φύλα και ωοπαραγωγής για τα θηλυκά καταγράφηκαν στον γυάλινο σωλήνα.

Στο Κεφάλαιο 5, μελετήθηκε το διάστημα που η γέλη μπορεί να παράσχει νερό και τροφή στα ενήλικα. Η αξιολόγηση έγινε με βάση την επίδραση που είχε στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων η ανανέωση της γέλης κάθε 4, 10 και 20 ημέρες. Σε μία επιπλέον μεταχείριση δεν πραγματοποιήθηκε αλλαγή της γέλης μέχρι το θάνατο όλων των ενηλίκων. Η υψηλότερη επιβίωση καταγράφηκε για αρσενικά όταν η αλλαγή γινόταν κάθε 4 ημέρες και για τα θηλυκά όταν η αλλαγή γινόταν κάθε 20 ημέρες. Τα υψηλότερα ποσοστά ωοπαραγωγής καταγράφηκαν σε θηλυκά που τρέφονταν από νέα γέλη κάθε 4 ή κάθε 10 ημέρες.

Στο Κεφάλαιο 6 δίνονται τα αποτελέσματα της καταγραφής της ημερήσιας δραστηριότητας των ενηλίκων με το ηλεκτρονικό σύστημα LAM25system (Trikinetics). Στο LAM25system τα έντομα διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες. Τον κάθε σωλήνα διαπερνούσαν 3 συστοιχίες υπέρυθρων ακτινών, σε 3 διαφορετικά σημεία. Όταν το έντομο εντός του σωλήνα διαπερνούσε της συστοιχίες και οι ακτίνες προσέπιπταν στο σώμα του, τότε το σύστημα κατέγραφε το κάθε πέρασμα ως μία κίνηση. Στην πειραματική διαδικασία χρησιμοποιήθηκαν αρσενικά και θηλυκά άτομα για όλη την διάρκεια της ζωής τους. Η τροφή που εφαρμόστηκε περιείχε ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό σε γέλη από άγαρ. Τα θηλυκά ήταν περισσότερο δραστήρια από τα αρσενικά σε όλο το φάσμα των ηλικιών, όμως τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα από τα θηλυκά. Τα υψηλότερα ποσοστά δραστηριότητας και για τα δύο φύλα καταγράφηκαν στο πρώτο 20ήμερο της ζωής τους. Η δραστηριότητα μειώθηκε με την αύξηση της ηλικίας και για τα δύο φύλα, ενώ το ίδιο συνέβη και με την ωοπαραγωγή των θηλυκών.

Τα αποτελέσματα της διατριβής έδειξαν την επίδραση που είχε η αύξηση της ηλικίας και η τροφή, στην καθημερινή δραστηριότητα και επιβίωση των ενηλίκων και στη ωοπαραγωγή των θηλυκών. Η συχνότητα έκφρασης δραστηριότητας ήταν διαφορετική στα δύο φύλα και άμεσα συνδεδεμένη από την ηλικία, το περιβάλλον διατήρησης και την ποιότητα της τροφής.

Λέξεις κλειδιά: μύγα Μεσογείου, ημερήσια δραστηριότητα, ηλικία, ωοπαραγωγή, LAM25system, διατροφή, δημογραφικό περιβάλλον, γήρανση, τροφή ενηλίκων

Summary

Daily locomotor activity patterns of adult medflies, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), was studied, by using the Locomotor Activity Monitor “LAM25system –Trikinetics”. The experiments were conducted under constant laboratory conditions (25 ± 1 °C, RH 65 ± 5 %), at the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, University of Thessaly, Greece, during 2019 – 2020. The laboratory medfly strain “Benakio” was used in all experimental procedures of this study. A new gel diet, which was adequate to fulfill daily needs of adults for nutrients and water, was employed during housing of adult flies in the tubes of LAM25system. This gel diet contained sugar, yeast hydrolysate (protein), water and agar and was evaluated in demographic experiments.

In Chapter 3, we studied the ability of adults to ingest sugar, protein and water through the agar-based gel. Ten males and ten females were maintained throughout their lifespan in Plexiglas cages. They had access to each of seven different diets, in which water was supplied either by the agar-based gel or by a vial with impregnated wick. No significant differences in survival were observed between adults fed with the new agar-based diet and with the commonly used liquid sugar-protein diet containing yeast hydrolysate, sugar and water. Adults with access to the liquid sugar-protein diet, without water supply, had shorter lifespan than adults of the two treatments mentioned above, but significantly higher lifespan than those maintained with access only to water supply, either from gel or vial.

In Chapter 4, we tested the effects of the glass tubes of LAM25system and of the new gel diet on the demographic parameters (lifespan, fecundity) of adult medflies. The demographic traits were compared against those of adults kept in individual cages (400 ml plastic transparent cups) with access to the liquid sugar-protein diet and to water through an impregnated wick, commonly used for demographic studies at the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, University of Thessaly. Twenty males and twenty females were individually kept in the two types of cages, for the whole duration of their lifespan. The higher rates of survival and fecundity were observed in flies kept in the glass tubes. Males lived longer than females in both treatments.

In Chapter 5, we studied the length of time that gel of the agar-based diet could provide water and nutrients to adults housed in LAM glass tubes. The evaluation was based on the effect that gel would have on the demographic parameters of the adults, if it was renewed every 4, 10 and 20 days. In an additional treatment, gel was not changed until the death of all adults. The highest survival was recorded in males when the gel renewal was made every 4 days and in females when the change was made every 20

days. The highest egg production rates were recorded in females when the diet renewal was every 4 or 10 days.

In Chapter 6, we recorded the locomotor activity patterns of adult medflies by using the Locomotor Activity Monitor- LAM25system (Trikinetics). On this system, each tube was pierced by 3 arrays of infrared laser beams in 3 different points. Activity was measured every minute as the number of times the fly passed through an infrared beam. Each glass tube was provided with the gel-based agar diet that provided adult flies with nutrients and water. Sixteen males and sixteen females were kept in the tubes for their entire lifespan. Females were more active than males, but males were longer-lived than females. The highest activity rates for both sexes were recorded in the first 20 days of life. Activity decreased with increasing age for both sexes, while the same trend was observed with the egg production of females.

In conclusion, we reported the effect of age and diet on the daily locomotor activity and survival of adult medflies and on the egg production of females. The frequency of activity expression was different in both sexes and directly related to age, caging conditions and food quality.

Key words: Medfly, *Ceratitis capitata*, daily locomotor activity, age, fecundity, LAM25system, diet, demographic parameters, ageing, adults' food

Εγώ, ο Ροδοβίτης Βασίλειος, είμαι ο συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης, έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από τον κo Ροδοβίτη Βασίλειο.

Περιεχόμενα	
Πρόλογος – Ευχαριστίες	3
Περίληψη	4
Summary	6
Κεφάλαιο 1. Γενική Εισαγωγή	13
1.1.Γενικά χαρακτηριστικά.....	13
1.1.1.Καταγωγή- γεωγραφικά εξάπλωση	13
1.1.2.Μορφολογία- ανατομία	14
1.1.3. Βιολογία του εντόμου.....	16
1.1.4. Εύρος ξενιστών- διαχείριση πληθυσμών	17
1.2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά της μύγας της Μεσογείου	20
1.2.1. Δημογραφία και Βιοδημογραφία.....	20
1.2.2. Διαφορές στα δημογραφικά χαρακτηριστικά μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου	21
1.2.3. Επίδραση της διατροφής και του συνωστισμού κατά τα προνυμφικά στάδια στην αρμοστικότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου	23
1.2.4 Επίδραση της ποιότητας της τροφής και του διατροφικού περιορισμού των ενηλίκων στα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά	25
1.2.5 Διαφορές στον τρόπο εκδήλωσης σεξουαλικής συμπεριφοράς μεταξύ αρσενικών και θηλυκών	27
1.2.6. Συσχέτιση ηλικίας και ωοπαραγωγής.....	29
1.2.7. Συσχέτιση ηλικίας και ημερήσιας δραστηριότητας	30
1.3. Σκοπός της παρούσας διατριβής	32
Κεφάλαιο 2. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι	34
2.1. Συνθήκες εργαστηρίου	34
2.2. Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής	35
2.3. Δημιουργία τροφών	37
2.4. Στατιστική ανάλυση	38
Κεφάλαιο 3. Επίδραση διαφορετικών μεταχειρίσεων παροχής τροφής και νερού, στην διάρκεια ζωής των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου	39
3.1. Εισαγωγή	39
3.2. Υλικά και μέθοδοι	40
3.3. Στατιστική ανάλυση	41
3.4. Αποτελέσματα	42

3.5. Συζήτηση	45
Κεφάλαιο 4. Μελέτη της δημογραφίας ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που διατηρούνταν σε συμβατικούς γυάλινους σωλήνες και σε ατομικά κλουβιά δημογραφίας	48
4.1. Εισαγωγή	48
4.2. Υλικά και μέθοδοι	49
4.2.1. Προσαρμογή γυάλινων σωλήνων του συστήματος LAM25system, Trikinetics για τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου	49
4.2.2. Πλαστικά ατομικά κλουβιά	52
4.2.3. Πειραματική διαδικασία.....	53
4.4. Στατιστική ανάλυση	53
4.5. Αποτελέσματα	54
4.6. Συζήτηση	59
Κεφάλαιο 5. Επίδραση της διάρκειας έκθεσης των ενηλίκων στην τροφή με βάση την γέλη από άγαρ “YS Agar”, στην διάρκεια ζωής και στην ωοπαραγωγή τους.	62
5.1. Εισαγωγή	62
5.2. Υλικά και μέθοδοι	64
5.3. Στατιστική ανάλυση	65
5.4. Αποτελέσματα	66
5.5. Συζήτηση	72
Κεφάλαιο 6. Λεπτομερείς καταγραφή της δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σε όλη την διάρκεια της ζωής τους.	76
6.1. Εισαγωγή	76
6.2. Υλικά και μέθοδοι	78
6.3. Στατιστική ανάλυση	85
6.4. Αποτελέσματα	85
Δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων που διατηρούνταν στο LAM25system	85
Ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών	88
Δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών σε σχέση με την ηλικία	91
Σχέση δραστηριότητας και διάρκειας ζωής θηλυκών	94
Σχέση της ηλικίας και της θνησιμότητας με την δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου	95
6.5. Συζήτηση	99

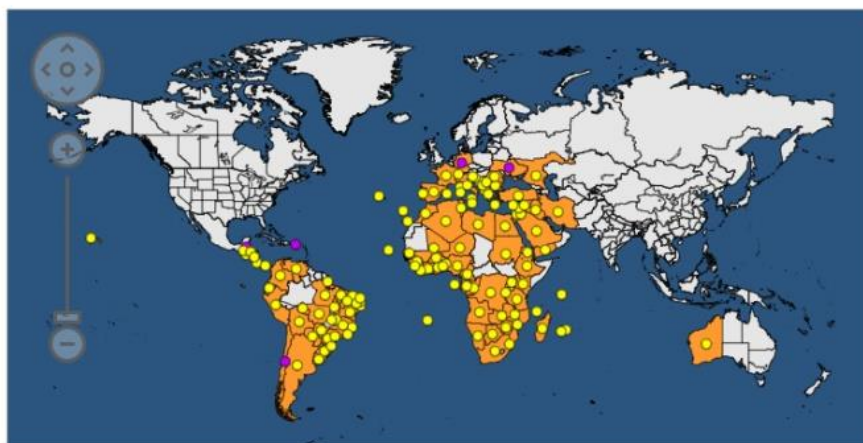
Κεφάλαιο 7. Γενικά συμπεράσματα	103
Βιβλιογραφία	105

Κεφάλαιο 1. Γενική Εισαγωγή

1.1.Γενικά χαρακτηριστικά

1.1.1.Καταγωγή- γεωγραφικά εξάπλωση

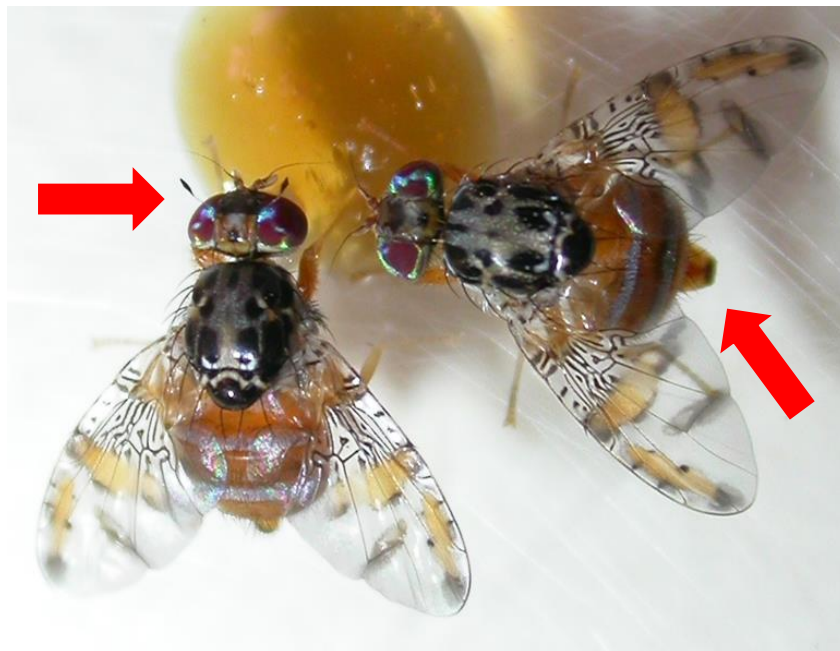
Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), ανήκει στην οικογένεια Tephritidae των Δίπτερων. Η οικογένεια Tephritidae απαριθμεί πάνω από 5500 είδη, από τα οποία περίπου τα 250, ευθύνονται για καταστροφικές επιπτώσεις στην αγροτική παραγωγή (White and Elson-Harris, 1992; EFSA, Bragard et al., 2020). Η μύγα της Μεσογείου πιθανολογείται ότι προέρχεται από την υποσαχάριο κεντροανατολική Αφρική (Malacrida et al., 1998; De Meyer et al., 2002 και πηγές που αναφέρουν). Η γεωγραφική εξάπλωση του εντόμου εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα και το πλήθος των ξενιστών του, το κλίμα και την εμπορία και διακίνηση προσβεβλημένων καρπών (Paradourou, 2008). Οι πληθυσμοί του εντόμου έχουν καταγραφεί επίσης στην Ευρώπη, σε διάφορα σημεία της Μεσογείου, και σε άλλες Ηπειρωτικές περιοχές του κόσμου, εκτός της Βόρειας Αμερικής και της Ασίας, όπου το έντομο θεωρείται ότι εγκαταστάθηκε μεταγενέστερα (White and Elson-Harris, 1992). Πλέον, η μύγα της Μεσογείου έχει εγκατασταθεί σε ολόκληρη τη λεκάνη της Μεσογείου, την Αυστραλία, την Κεντρική, και Νότια Αμερική, τα νησιά του Ινδικού και Ατλαντικού Ωκεανού, τη Μέση Ανατολή και την Ανατολική Ασία (Εικ. 1.1) (White and Elson-Harris, 1992; De Meyer et al., 2002), ενώ οι Paradourou et al., (2013), αναφέρουν την εγκατάσταση πληθυσμών του εντόμου και στην Βόρεια Αμερική.



Εικόνα 1.1: Παγκόσμιος χάρτης εξάπλωσης της μύγας της Μεσογείου. Με κίτρινο χρώμα επισημαίνονται τα σημεία όπου οι πληθυσμοί του εντόμου είναι εγκατεστημένοι και με μωβ χρώμα τα σημεία όπου εμφανίζονται παροδικά (EPPO, 22-07-2020, Ηλεκτρονική πηγή 1)

1.1.2.Μορφολογία- ανατομία

Στο στάδιο του ενηλικού, το μήκος και το πλάτος του εντόμου κυμαίνονται από 4 έως 6 mm και από 1,2 έως 2 mm, αντίστοιχα (White and Elson-Harris, 1992). Χαρακτηριστικές είναι οι μαύρες, καστανές και κίτρινες αποχρώσεις των κηλίδων του θώρακα και των πτερύγων του ενηλικού (Εικ 1.2). Οι Τζανακάκης και Κατσόγιαννος (2003), από Avidof and Harpaz (1969) περιγράφουν την κεφαλή ως κίτρινη με μικρές τρίχες ανάμεσα στους σύνθετους, λαμπερούς, μωβ χρώματος, οφθαλμούς. Οι κεραίες είναι καστανέρυθρες και ο θώρακας μαύρος στα νώτα, με κηλίδες ανοιχτών αποχρώσεων, ενώ στην κοιλιακή επιφάνεια είναι κίτρινος (Papadopoulos, 2008; Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Η κοιλιακή χώρα είναι πορτοκαλοκίτρινη με εγκάρσιες ζώνες καστανού χρώματος και πολλαπλά στίγματα. Οι πτέρυγες έχουν μήκος 4,5 mm η καθεμιά και είναι διαφανείς με κηλίδες και ζώνες καστανού, κόκκινου και κίτρινου χρώματος. Τα πόδια είναι ερυθροκίτρινα και οι πίσω κνήμες φέρουν σκληρές τρίχες. Στα θηλυκά άτομα χαρακτηριστικός είναι ο σκούρος ερυθροκίτρινος ωσθέτης μήκους 0,9-1,3 mm που βρίσκεται στο κάτω μέρος της κοιλιάς (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003; White and Elson-Harris, 1992). Αντιθέτως, χαρακτηριστικό γνώρισμα των αρσενικών αποτελούν οι δύο κερατοειδείς αποφύσεις, γκριζου χρώματος, στην πάνω πλευρά της κεφαλής που τα διαφοροποιεί από όλα τα υπόλοιπα μέλη της οικογένειας Tephritidae (White and Elson-Harris, 1992).



Εικόνα 1.2: Ενήλικα άτομα της μύγας της Μεσογείου. Αριστερά επισημαίνεται με κόκκινο το αρσενικό και διακρίνονται οι κερατοειδείς αποφύσεις στην κεφαλή, ενώ δεξιά βρίσκεται το θηλυκό με τον ερυθροκίτρινο ωσθέτη στην βάση της κοιλιάς (Φωτ. Νίκος Παπαδόπουλος).

Τα αυγά είναι διαστάσεων 0,9- 1,1 mm × 0,2 mm, λευκά, στενόμακρα (Εικ. 1.3), τα οποία μέσω του ωοθήτη, το αναπαραγωγικά ώριμο, ενήλικο, θηλυκό τα εναποθέτει στον ξενιστή (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).



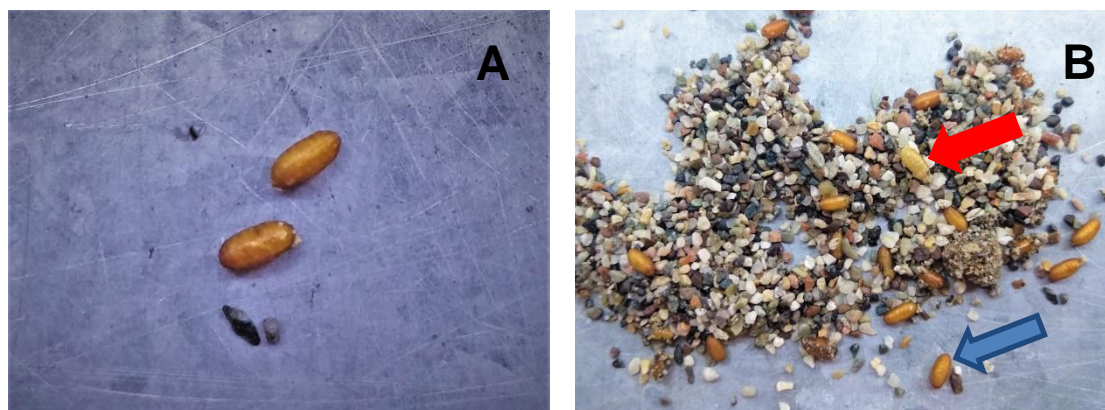
Εικόνα 1.3: Αυγά της μύγας της Μεσογείου σε υπόστρωμα ωοτοκίας με μαύρο φόντο. Διακρίνεται το χαρακτηριστικό στενόμακρο σχήμα και το λευκό χρώμα τους.

Η προνύμφη του εντόμου είναι διαστάσεων 6-10 mm × 1,5-2 mm στην 3^η ηλικία, λευκού ή κρεμώδους κιτρινωπού χρώματος, ακέφαλη και άποδη όπως όλες, οι προνύμφες της οικογένειας Tephritidae (Εικ 1.4). Το πρόσθιο τμήμα της είναι στενότερο από το οπίσθιο και καταλήγει στα στοματικά μόρια, ενώ στο πίσω μέρος της είναι κυλινδρική και φέρει τα εδρικά αναπνευστικά στίγματα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Οι τρεις προνυμφικές ηλικίες διαφέρουν στο μέγεθος, αλλά και στα στοματικά τους μόρια (μορφή και χρώμα). Πιο συγκεκριμένα, οι διαστάσεις της προνύμφης 1^{ης} ηλικίας είναι 0,17-2,2 mm, της 2^{ης} 2,3-5 mm και της 3^{ης} 6-10 mm (Paradopoulos, 2008).



Εικόνα 1.4: Προνύμφες της μύγας της Μεσογείου, διακρίνονται τα μαύρου χρώματος στοματικά μόρια στο πρόσθιο τμήμα.

Η νύμφη είναι διαστάσεων 4-4,5 mm × 2-2,5 mm και ελλειψοειδούς-βαρελόμορφου σχήματος (Εικ 1.5) (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Το χρώμα των νυμφών καθορίζεται από το είδος του ξενιστή (Papadopoulos, 2008).



Εικόνα 1.5: Νύμφες της μύγας της Μεσογείου χαρακτηριστικού πορτοκαλοκίτρινου χρώματος (A). Νύμφες του εντόμου σε άμμο όπου πραγματοποιείται η νύμφωση (B). Το κόκκινο βέλος επισημαίνει τη νύμφη ανοιχτού κίτρινου χρώματος, αμέσως μετά την νύμφωση, και το μπλε βέλος τη νύμφη καστανού χρώματος μετά το πέρας πέντε ημερών από την νύμφωση.

1.1.3. Βιολογία του εντόμου

Η μύγα της Μεσογείου είναι πολυκυκλικό είδος εντόμου που συμπληρώνει πολλές γενεές το έτος ανάλογα με την περιοχή στην οποία βρίσκεται. Πιο συγκεκριμένα, ο αριθμός των γενεών εξαρτάται από το πλήθος και την διαθεσιμότητα των ξενιστών, στην εκάστοτε περιοχή, καθώς και τις κλιματικές συνθήκες (Διαμαντίδης, 2009). Στις νοτιότερες περιοχές της Μεσογείου, το έντομο μπορεί να παραμένει δραστήριο καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, συμπληρώνοντας διαδοχικές και αλληλεπικαλυπτόμενες γενεές, ενώ σε βορειότερες περιοχές, διαχειμάζει ώστε να ανταπεξέλθει στις χαμηλές χειμερινές θερμοκρασίες (Papadopoulos, 2008). Στην Ελλάδα συμπληρώνει 3-7 γενεές το έτος. Σε περιοχές όπου η θερμοκρασία τους χειμερινούς μήνες είναι αρκετά χαμηλή διαχειμάζει ως προνύμφη εντός προσβεβλημένων καρπών κυρίως μήλων και νεραντζιών (Papadopoulos et al., 1996; Παπαδόπουλος, 1999). Αναφορές έχουν γίνει και στην διαχείμασή της μύγας της Μεσογείου στο στάδιο του ενηλίκου, σε περιοχές με ηπιότερους χειμώνες όπως η Κρήτη (Μαυρικάκης και συνεργάτες 1997, από Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα ενήλικα τρέφονται με ζαχαρούχες και αζωτούχες ουσίες όπως νέκταρ και μελιτώδη απεκκρίματα, ωριμάζουν αναπαραγωγικά και συζευγνύονται σε διάστημα που κυμαίνεται από λίγες ημέρες έως λίγες εβδομάδες. Στη συνέχεια τα θηλυκά ωοτοκούν σε ημιώριμους και ώριμους καρπούς των διαθέσιμων ξενιστών. Το θηλυκό εισάγει τον ωοθήτη διατρύπώντας την επιδερμίδα του φλοιού του καρπού, και εναποθέτει στο

επικάρπιο ή στο μεσοκάρπιο συνήθως 1-9 αυγά (Papadopoulos, 2008). Η ωτοκία μπορεί επίσης να πραγματοποιηθεί σε παλαιότερες σπές ωτοκίας άλλων θηλυκών, του ίδιου είδους ή άλλων εντόμων, ή και σε τραύματα του φλοιού από άλλα αίτια. Οι προνύμφες τρέφονται εσωτερικά στο μεσοκάρπιο δημιουργώντας στοές. Όταν ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους οι προνύμφες εγκαταλείπουν τον καρπό και νυμφώνονται στο έδαφος σε μικρό βάθος. Συνήθως, την αλλοίωση του καρπού λόγω διάβρωσης και νέκρωσης από τη διατροφική δραστηριότητα της προνύμφης, διαδέχονται δευτερογενείς προσβολές και σήψεις από άλλα έντομα, βακτήρια και μύκητες (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

1.1.4. Εύρος ξενιστών- διαχείριση πληθυσμών

Η μύγα της Μεσογείου, ως εξαιρετικά πολυφάγο είδος, προσβάλλει περίπου 353 ξενιστές (EFSA, Bragard et al., 2020; Papadopoulos et al. 2001). Οι ξενιστές του εντόμου είναι κυρίως καρποφόρα δέντρα που ανήκουν σε 67 διαφορετικές οικογένειες. Σύμφωνα με τον Liquidó 1991 το 40 % των ξενιστών προέρχεται από τις εξής οικογένειες: Myrtaceae (6%), Rosaceae (10%), Rutaceae (9%), Spatocaceae (9%), Solanaceae (6%). Οι ξενιστές είναι κυρίως τροπικά, υποτροπικά και φυλλοβόλα είδη. Πιο συγκεκριμένα, ο Papadopoulos (2008), αναφέρει ως σημαντικότερους ξενιστές τα τροπικά φυτά και πιο συγκεκριμένα τον καφέ (*Coffea Arabica*), το μάνγκο (*Manifera Indica*), την παπάγια (*Carica papaya*), το αβοκάντο (*Persea americana*), την γκουάβα (*Psidium guajava*), την καραμπόλα (*Averrhoa carambola*), το πορτοκάλι (*Citrus sinensis*) (Εικ 1.6), το νεράντζι (*Citrus aurantium*) (Εικ. 1.7), το γκρέιπφρουτ (*Citrus x paradisi*), το σύκο (*Ficus carica*) (Εικ. 1,8), τη φραγκοσουκιά (*Opuntia vulgaris*), τη μουσμουλιά (*Eriobotrya japonica*) και το λωτό (*Diopsyros kaki*). Επίσης, ως σημαντικούς περιστασιακούς ξενιστές ο προηγούμενος συγγραφέας αναφέρει το ροδάκινο (*Prunus persicae*) (Εικ. 1.9), το βερίκοκο (*Prunus americana*), το μήλο (*Malus domestica*) και το αχλάδι (*Pyrus communis*).



Εικόνα 1.6: Τροφική δραστηριότητα προνύμφης εντός προσβεβλημένου πορτοκαλιού.



Εικόνα 1.7: Προνύμφη 3^{ης} ηλικίας κατά την έξοδο της από καρπό νεραντζιάς (Φωτ. Παπαδογιώργου Γεωργία).



Εικόνα 1.8: Ομάδα αυγών της μύγας της Μεσογείου στο εσωτερικό σύκου.



Εικόνα 1.9: Νύγμα ωτοκίας σε ροδάκινο.

Η μύγα της Μεσογείου αποτελεί σοβαρό εχθρό για πολλά από τα παραπάνω φυτικά είδη καθώς τα ποσοστά προσβολής πλησιάζουν σε πολλές περιπτώσεις το 100%. Σε αρκετά κράτη ανά την υφήλιο εφαρμόζονται προγράμματα και πρωτόκολλα αντιμετώπισης του εντόμου, τα οποία προτείνονται και οργανώνονται υπό την αιγίδα κυβερνητικών φορέων και διεθνών οργανισμών φυτογείας- φυτοπροστασίας, όπως ο European Plant Protection Organization (EPPO) και ο International Atomic Energy Agency (IAEA). Τα προγράμματα χρησιμοποιούν συνδυασμούς στρατηγικών και μεθόδων για την διαχείριση των πληθυσμών με τελικό στόχο τη διατήρηση των προσβολών κάτω από το όριο οικονομικής ζημιάς και την αποτροπή

εισβολής του εντόμου σε περιοχές που δεν έχει καταγραφεί η παρουσία του. Η διαχείριση των πληθυσμών του εντόμου πραγματοποιείται με χημικά και βιολογικά σκευάσματα. Επίσης προτείνεται η ολοκληρωμένη διαχείριση, μέσω του συνδυασμού των διαθέσιμων μεθόδων. Τέτοιες μέθοδοι είναι κυρίως η εξαπόλυση στείρων εντόμων (SIT- Sterile Insect Technique) και φυσικών εχθρών, η μαζική παγίδευση και η παρακολούθηση των πληθυσμών. Επιπροσθέτως στην ολοκληρωμένη διαχείριση εντάσσεται και η χρήση βιολογικών και χημικών σκευασμάτων. Σε κράτη και περιοχές όπου το έντομο δεν είναι εγκατεστημένο και συνήθως χαρακτηρίζεται ως οργανισμός καραντίνας, εφαρμόζονται επίσης προγράμματα αποτροπής εισβολής και παρακολούθησης. Τα τελευταία έτη πραγματοποιείται σημαντική εφαρμογή των μοντέλων πρόβλεψης της εισβολής. Στα μοντέλα αυτά, σύμφωνα με τα κλιματικά δεδομένα και την πληθώρα των ξενιστών στην εκάστοτε περιοχή, προβλέπεται και εξετάζεται η πιθανή είσοδος του εντόμου στο πέρασμα του χρόνου. Έτσι οργανώνεται και σχεδιάζεται αποτελεσματικότερα η στρατηγική διαχείρισής του (IAEA, 1995; Papadopoulos, 2008).

1.2. Δημογραφικά χαρακτηριστικά της μύγας της Μεσογείου

1.2.1. Δημογραφία και Βιοδημογραφία

Σύμφωνα με τον Achille Guillard (1855), που αναφέρεται από τους Siegel and Swanson (2004), η δημογραφία είναι η μαθηματική μελέτη των πληθυσμών των οργανισμών και των μεταβολών τους σε φυσικά και τεχνητά περιβάλλοντα (Carey, 2020). Ως επιστήμη, ασχολείται με την δυναμική των πληθυσμών και με τον τρόπο που αυτή επηρεάζεται από τις γεννήσεις, τους θανάτους και τις μεταναστεύσεις που συμβαίνουν σε πραγματικό χρόνο (Grundy, 2014). Σύμφωνα με τον Shryock (1976), η κλασική δημογραφία αναφέρεται σε τέσσερις πτυχές ενός πληθυσμού: στο μέγεθος (αριθμός των ατόμων), στην κατανομή (χώρος που καταλαμβάνουν σε μια δεδομένη χρονική στιγμή τα άτομα του πληθυσμού), στη δομή (αναλογία των φύλων και των ηλικιών εντός του πληθυσμού) και στην πληθυσμιακή αλλαγή (αυξομείωση των παραπάνω αριθμών εντός του πληθυσμού) (Carey, 1993 και πηγές που αναφέρει). Αρχικά ο όρος δημογραφία αναφερόταν μόνο στους πληθυσμούς των ανθρώπων, αλλά μετέπειτα χρησιμοποιήθηκε από τους βιολόγους και για όλους τους υπόλοιπους οργανισμούς, με στόχο την ευκολότερη κατανόηση τους (Carey, 1993).

Η βιοδημογραφία αποτελεί μια διεπιστημονική προσέγγιση της κλασικής δημογραφίας. Στην βιοδημογραφία τονίζονται βιολογικοί παράμετροι (γενετικοί, επιδημιολογικοί, εξελικτικοί) που επιδρούν στα δημογραφικά πρότυπα και σχετίζονται με την γονιμότητα, την υγεία, την

γήρανση και την μακροζωία (Mary Carroll, 2000, ηλεκτρονική πηγή 2). Συνδυάζοντας τα μοντέλα και τις τεχνικές της κλασικής δημογραφίας όπως οι πίνακες ζωής και τα μοντέλα θνησιμότητας θέτει ως απώτερο στόχο, την εύρεση απαντήσεων σε θεμελιώδη ερωτήματα που σχετίζονται με την μακροζωία, τη διάρκεια ζωής, τη γήρανση και τη θνησιμότητα των πληθυσμών (Carey, 2001). Τις τελευταίες δεκαετίες παρατηρείται αυξητική τάση στην χρησιμοποίηση των εντόμων ως οργανισμούς μοντέλα, για την μελέτη βιοδημογραφικών παραγόντων (Carey, 2001).

1.2.2. Διαφορές στα δημογραφικά χαρακτηριστικά μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου

Η μύγα της Μεσογείου παρουσιάζει μεγάλη επιτυχία στην προσαρμοστικότητά της σε περιβάλλοντα με διαφορετικά χαρακτηριστικά. Κατά πάσα πιθανότητα, η επιτυχία της οφείλεται στην μεγάλη γενετική παραλλακτικότητα που εμφανίζεται μεταξύ των πληθυσμών της ανά την υφήλιο, και στην πλαστικότητα που παρουσιάζεται εντός αυτών (Weldon, 2018; Malacrida et al., 2007). Οι διαφορετικοί πληθυσμοί ανταποκρινόμενοι στις πιέσεις της φυσικής επιλογής του εκάστοτε ενδιαιτήματος, έχουν αναπτύξει διαφορετικές στρατηγικές αναπαραγωγής και επιβίωσης (Diamantidis et al., 2011). Πιο συγκεκριμένα, παρατηρούνται διαφορές στα κύρια δημογραφικά χαρακτηριστικά μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών όπως η διάρκεια ζωής, το αναπαραγωγικό δυναμικό και η διάρκεια των γενεών (Malacrida et al., 2007). Τις τελευταίες δεκαετίες η μύγα της Μεσογείου χρησιμοποιείται ως οργανισμός μοντέλο σε μελέτες γενετικής, δημογραφίας και γήρανσης (Muller et al., 1997; Papadopoulos et al., 2010; 2013; Malacrida et al. 2007; Carey, 2011; Carey et al., 1992). Για παράδειγμα, η συσχέτιση των ρυθμών θνησιμότητας σε σχέση με την ηλικία (Age-specific mortality rates) χρησιμοποιείται με στόχο την κατανόηση των ορίων γήρανσης ενός πληθυσμού (Carey et al., 1992).

Οι διαφορετικοί πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου εμφανίζουν παραλλακτικότητα στα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά (Malacrida et al. 2007; Διαμαντίδης, 2009). Η αρμοστικότητα (fitness) των ενήλικων συνδέεται άμεσα με την επιβίωση και την αναπαραγωγή σε σχέση με την ηλικία (Διαμαντίδης, 2009 και πηγές που αναφέρει). Πληθυσμοί που προέρχονται από απομακρυσμένες γεωγραφικές περιοχές παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές στη διάρκεια ζωής και ανάπτυξης των ενήλικων και ανήλικων σταδίων, στα ποσοστά ωοτοκίας και στην περίοδο έως την αναπαραγωγική ωρίμανση (Diamantidis et al., 2009; 2011). Σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές όπου το έντομο θεωρείται ιθαγενές (Γουατεμάλα, Κένυα), οι φυσικοί εχθροί, οι κλιματικές συνθήκες, και η συνεχόμενη διαθεσιμότητα ξενιστών, ωθούν στην ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου σε σύντομο χρονικό

διάστημα, σε υψηλά ποσοστά ωτοκίας και θνησιμότητας. Αντιθέτως, σε εύκρατες περιοχές όπου το έντομο εγκαταστάθηκε μεταγενέστερα και οι κλιματικές συνθήκες δεν είναι ευνοϊκές καθ' όλη την διάρκεια του έτους ή οι ξενιστές είναι παροδικά διαθέσιμοι, το έντομο προσαρμόζεται ώστε να διαχειμάζει, παρατείνοντας την ανάπτυξη των ανήλικων σταδίων, τη διάρκεια ζωής και σεξουαλικής του ωρίμανσης (Diamantidis et al. 2009; Παπαδοπούλος, 1999). Οι παραπάνω διαφορές παρατηρούνται σε πειράματα σύγκρισης των δημογραφικών χαρακτηριστικών μεταξύ εργαστηριακών και άγριων πληθυσμών (Myrina et al., 1988; Dionysopoulou et al., 2020; Navarro-Campos et al. 2011; Sollai et al., 2020). Οι εργαστηριακοί πληθυσμοί ωριμάζουν αναπαραγωγικά γρηγορότερα και εκδηλώνουν υψηλότερη ωτοπαραγωγή σε συντομότερο χρόνο ζωής, σε σύγκριση με τους άγριους πληθυσμούς οι οποίοι υπερτερούν στην μακροζωία, την ικανότητα πτήσης και προσέλκυσης σε καρπούς ή έλαια ξενιστών (Sollai et al., 2020; Leppla et al., 1983, Ιωάννου 2005; Vargas and Carey, 1989). Η γενετική παραλλακτικότητα των εργαστηριακών πληθυσμών μειώνεται σταδιακά και σε συνδυασμό με την διατήρησή του σε ιδανικές συνθήκες δείχνει μικρότερη αντοχή σε οποιοδήποτε είδους καταπόνηση (stress) (Dionysopoulou et al., 2020; Souza et al., 1988). Για παράδειγμα, οι DeMoed (1997) και Sheiner and Lyman (1989), (από Παπαδόπουλος, 2019), αναφέρουν ότι πληθυσμοί του *Drosophila melanogaster* που εκτρέφονταν για αρκετά χρόνια σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες, εμφάνισαν εξασθένηση των μηχανισμών ανταπόκρισής τους σε διαφορετικές θερμοκρασιακές καταπονήσεις, λόγω της συσσώρευσης μεταλλάξεων στο γονιδίωμά τους. Αντίστοιχα, οι άγριοι πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου προσαρμόζονται σταδιακά από γενιά σε γενιά σε εργαστηριακές συνθήκες (Souza et al., 1988). Διαφορές μεταξύ των πληθυσμών παρατηρούνται και σε επίπεδο μορφολογίας και αρμοστικότητας, με τα άγρια έντομα και ειδικά εκείνα των εύκρατων περιοχών να είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος, να φέρουν μεγαλύτερες πτέρυγες και υψηλότερη ικανότητα πτήσης, σύζευξης και επιβίωσης (Navarro-Campos et al. 2011). Μεταξύ των ατόμων του ίδιου, άγριου πληθυσμού παρατηρούνται επίσης μορφολογικές διαφορές. Σε πειράματα των Navarro-Campos et al., (2011), τα μεγαλύτερου μεγέθους άτομα ήταν τα διαχειμάζοντα, που βρίσκονταν στις παγίδες τον χειμώνα και νωρίς την άνοιξη ή εξέρχονταν από καρπούς αυτής της περιόδου, καταδεικνύοντας ότι η αρμοστικότητα του ενήλικου εξαρτάται από τον ξενιστή, τη θερμοκρασία και τα θρεπτικά χαρακτηριστικά της τροφής των ανήλικων και ενήλικων σταδίων. Οι Carey (1984) και Krainacker et al., (1987), σε μελέτες που περιλάμβαναν πληθώρα ξενιστών του εντόμου, παρατήρησαν διαφορές στην ανάπτυξη των αυγών και προνυμφών (από 1 έως 3 εβδομάδες), στην επιβίωση (από 7% έως 100% στις προνύμφες και από 59% έως 96% στην νύμφες) και στο μέγεθος των ανήλικων σταδίων ανάλογα με τον ξενιστή. Στα ενήλικα άτομα που προέκυψαν, παρατηρήθηκαν αντίστοιχες διαφορές στα ποσοστά ημερήσιας (8,5 -19,7 αυγά/θηλυκό) και

συνολικής ωοτοκίας (490-690 αυγά/θηλυκό) με τα βραχύβια θηλυκά να υπερτερούν των μακροβιότερων στα ποσοστά αυτά.

1.2.3. Επίδραση της διατροφής και του συνωστισμού κατά τα προνυμφικά στάδια στην αρμοστικότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου

Η ανάπτυξη των προνυμφών καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την αρμοστικότητα των ενηλίκων (Krainacker et al., 1987). Η σύσταση των θρεπτικών στοιχείων του καρπού και των τεχνητών υποστρωμάτων ανάπτυξης των προνυμφών της μύγας της Μεσογείου έχει μελετηθεί εκτενώς. Οι διαφορετικοί ξενιστές επηρεάζουν θετικά ή αρνητικά την επιβίωση, την τροφική δραστηριότητα, τον χρόνο ανάπτυξης της προνύμφης και κατ'επέκταση την αρμοστικότητα και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά του ενήλικου ατόμου (Carey 2011; Dionysoroulou et al. 2020; Papadopoulos 2013). Σε πειράματα επιλογής, οι προνύμφες έδειχναν προτίμηση και υψηλότερη κατανάλωση των τεχνητών, τροφικών υποστρωμάτων ή των ιστών του καρπού, με περίσσεια θρεπτικών στοιχείων (υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, αμινοξέα), σε σύγκριση με τα αντίστοιχα υποστρώματα μειωμένης συγκέντρωσης θρεπτικών (Zucoloto, 1987; Canato and Zucoloto, 1998). Οι προνύμφες αντισταθμίζουν την έλλειψη διαθέσιμης πρωτεΐνης στην τροφή με αυξημένη τροφική δραστηριότητα (Zucoloto, 1987; Nestel et al., 2008). Επίσης, οι προνύμφες παρουσιάζουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και αργή ανάπτυξη σε καρπούς με σκληρή σάρκα, χαμηλής θρεπτικής αξίας όπως τα μήλα και τα κυδώνια. Τα ενήλικα που εξέρχονται από τους καρπούς αυτούς αργούν να ωριμάσουν αναπαραγωγικά, σημειώνουν χαμηλά ποσοστά ωοτοκίας, αλλά είναι μακροβιότερα και φέρουν υψηλή ικανότητα πτήσης και σύζευξης (Papadopoulos et al., 2002; Carey, 1984). Η παρατεταμένη διάρκεια ανάπτυξης στο προνυμφικό στάδιο, δίνει τη δυνατότητα στο έντομο να προσλάβει περισσότερα θρεπτικά συστατικά που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση συνθηκών καταπόνησης (Nestel et al., 2004; 2005; Nestel and Nemny-Lavy 2008; Gerofotis et al., 2019). Αντίστοιχα, οι προνύμφες που τρέφονται σε μαλακούς καρπούς υψηλής περιεκτικότητας σε θρεπτικά συστατικά, όπως ροδάκινα, σύκα και μερικά εσπεριδοειδή, έχουν ταχύτερη προνυμφική ανάπτυξη, χαμηλότερη θνησιμότητα και τα ενήλικα που προκύπτουν έχουν αντίστοιχα υψηλά ποσοστά ωοπαραγωγής και σύζευξης αλλά είναι βραχύβια στις πλείστες των περιπτώσεων (Papadopoulos et al., 2002; Carey, 1984; Papachristos et al., 2009). Σε τεχνητά υποστρώματα και φυσικούς ιστούς εσπεριδοειδών με ποικιλία αναλογιών σε πρωτεΐνες/ υδατάνθρακες/ ιχνοστοιχεία παρουσιάστηκαν διαφορές στο τελικό βάρος των προνυμφών και των νυμφών επηρεάζοντας αντίστοιχα τα βιολογικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων (Nestel

et al., 2004; 2005; 2008). Σύμφωνα με τους Kaspi et al. (2002), η υψηλή ποσότητα πρωτεΐνης στην τροφή των προνυμφών αύξησε την ταχύτητα ανάπτυξης των ανήλικων σταδίων, και τα ενήλικα που εξήλθαν ήταν μεγάλου μεγέθους, ενώ σύμφωνα με τους Nestel et al. (2004) και (2008), τα ενήλικα που αναπτύχθηκαν σε καρπούς εσπεριδοειδών ή σε τεχνητά υποστρώματα με περίσσεια αμινοξέων, έφεραν υψηλότερα ποσοστά λιπιδίων και υψηλότερα επίπεδα αρμοστικότητας. Η προνύμφη καταναλώνει 0,6 gr μαγιάς μπύρας (Brewer's Yeast), που χρησιμοποιείται ως πηγή πρωτεΐνης σε τεχνητά υποστρώματα, στα 100ml τροφικού υποστρώματος, ενώ το ενήλικο θηλυκό 0,1 gr αντίστοιχα, γεγονός που δείχνει ότι στα προνυμφικά στάδια, η παρουσία της πρωτεΐνης είναι απαραίτητη ενώ το αντίθετο συμβαίνει στην περίπτωση των υδατανθράκων που είναι απαραίτητοι για τη δραστηριότητα των ενηλίκων (Canato and Zucoloto, 1998).

Το περιβάλλον ανάπτυξης της προνύμφης επηρεάζει την αρμοστικότητα του ενηλίκου (Carey, 2011). Σημαντικός παράγοντας ο οποίος επιδρά στην προνυμφική ανάπτυξη είναι η πυκνότητα συγκέντρωσης των προνυμφών στον ξενιστή ή στο τεχνητό υπόστρωμα. Η επίδραση του συνωστισμού στο στάδιο της προνύμφης καθορίζεται από τον τύπο της αλληλεπίδρασης και τις συνθήκες καταπόνησης που συνδέονται με τον χώρο και την διαθεσιμότητα της τροφής, επηρεάζοντας θετικά ή αρνητικά την αρμοστικότητα των ενηλίκων (Dukas et al., 2001; Diamantidis et al., 2020). Επίσης, θερμοκρασίες εντός του υποστρώματος ανάπτυξης, κατώτερες των 15°C μειώνουν τα ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών, ενώ ως ιδανικό εύρος θεωρείται το 20-30°C ανάλογα τον υπό εξέταση πληθυσμό (Duyck and Quilici, 2002; Ricalde et al., 2012). Ο ρυθμός ανάπτυξης της προνύμφης που της προσδίδει και το τελικό της μέγεθος, φαίνεται να μειώνεται με την χαμηλή θερμοκρασία και να αυξάνει με την υψηλή διατροφική ποιότητα (Davidowitz et al., 2004; Edgar, 2006). Η χαμηλή θερμοκρασία σε συνδυασμό με κατώτερης διατροφικής ποιότητας υπόστρωμα, έχει ως αποτέλεσμα την επιβίωση υψηλού ποσοστού προνυμφών, καθώς παρατείνεται η διάρκεια ανάπτυξης και αφομοίωσης των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών (Dionysoroulou et al., 2020). Το επίπεδο αντοχής στον υποσιτισμό στο στάδιο του ενηλίκου, σχετίζεται με το ποσοστό συγκέντρωσης των λιπιδίων στο σώμα του, το οποίο εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την προνυμφική διατροφή και διαφέρει μεταξύ των πληθυσμών (Gerofotis et al., 2019; Weldon et al., 2016). Σε μελέτη του Παπαδόπουλου 1999, αποσαφηνίζεται η επίδραση των χαμηλών θερμοκρασιών και της μικρής διαθεσιμότητας των ξενιστών, των βορειότερων περιοχών της χώρας, στην επιβίωση των προνυμφών κατά την διάρκεια του χειμώνα και στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων του συγκεκριμένου πληθυσμού. Τα αποτελέσματα της μελέτης αποδεικνύουν την ικανότητα της μύγας της Μεσογείου, να προσαρμόζεται σε δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες. Η προσαρμογή περιλαμβάνει διαχείμαση στο εσωτερικό του ξενιστή (μήλο) κατά την διάρκεια των χαμηλών θερμοκρασιών

του χειμώνα και καθυστερημένη προνυμφική ανάπτυξη σε ξενιστές χαμηλότερης θρεπτικής αξίας και σκληρότερης σάρκας.

1.2.4 Επίδραση της ποιότητας της τροφής και του διατροφικού περιορισμού των ενηλίκων στα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά

Η ποιότητα και η σύσταση της τροφής των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου επηρεάζει σημαντικά τα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά. Μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, τα ενήλικα τρέφονται με σακχαρούχες και πρωτεϊνούχες ουσίες ώστε να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες και να ωριμάσουν αναπαραγωγικά, με την ποιότητα της τροφής να επηρεάζει σημαντικά βιολογικές παραμέτρους, όπως η γονιμότητα και η αρμοστικότητα (Hendrichs and Hendrichs, 1990; Carey, 2002b; Hendrichs et al., 1991). Η διαθέσιμη πρωτεΐνη στο φυσικό περιβάλλον είναι περιορισμένη και τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου την αποκτούν μέσω κατανάλωσης περιπτωμάτων πτηνών, μελιττωδών αποχωρημάτων άλλων ειδών εντόμων, καθώς και σηπόμενων φρούτων. Αντίστοιχα, πηγές υδατανθράκων αποτελούν το νέκταρ των ανθέων, τα μελιτώματα και οι χυμοί φρούτων (Placido-Silva et al., 2006; Hendrichs and Hendrichs, 1990).

Εκτενής αριθμός ερευνών, μελετά την επίδραση του διατροφικού και θερμιδικού περιορισμού στην επιβίωση, τη γήρανση και την αναπαραγωγή των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, αντλώντας σημαντικές πληροφορίες για τα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά (Romanyukha et al., 2004; Παπαναστασίου, 2014). Ο διατροφικός περιορισμός έγκειται στην μείωση της ποσότητας και ποιότητας τροφής που λαμβάνει το άτομο ημερησίως, ενώ ο θερμιδικός περιορισμός αφορά τη μείωση ή αύξηση των θερμίδων και των θρεπτικών συστατικών σε αυτήν. Η διαχείριση της τροφής μέσω της τεχνικής του διατροφικού και θερμιδικού περιορισμού περιλαμβάνει πληθώρα διατροφικών και πειραματικών πρωτοκόλλων με τα οποία διερευνώνται πιθανές αλληλεπιδράσεις με το φύλο, την ηλικία και την προέλευση του υπό εξέταση πληθυσμού (Placido-Silva et al., 2006; Davies et al., 2005; Carey et al., 1999; 2002a; 2002b). Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνει την ωοπαραγωγή των θηλυκών και τη σεξουαλική δραστηριότητα στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου, αυξάνοντας παράλληλα σε αρκετές περιπτώσεις τα επίπεδα θνησιμότητας (Kaspi et al., 2000; Carey et al., 2002a; 2002b; 1999). Η αναπαραγωγή και οι συμπεριφορές των ενηλίκων που σχετίζονται με αυτή (σεξουαλικό κάλεσμα αρσενικών, ερωτοτροπία κ.λπ.) είναι ενεργοβόρες διαδικασίες και συχνά επιδρούν αρνητικά στην επιβίωση των ενηλίκων. Το κόστος της αναπαραγωγής σε σχέση με την επιβίωση συνδέεται συχνά με διαθεσιμότητα των θρεπτικών συστατικών προς όφελος της παραγωγής απογόνων, αντί για τη διατήρηση του σώματος και την επιβίωση (Carey et al.,

1998a; 1998b). Η διαρκής κατανάλωση της πληρέστερης τροφής καθορίζεται από την γενετική προδιάθεση του ατόμου για κυριαρχία σε περιβάλλοντα υψηλού σεξουαλικού ή τροφικού ανταγωνισμού (Gaskin et al., 2002; Papadopoulos et al., 2010). Οι Shelly et al., (2002a), (2002b) και (2003), επισημαίνουν πως δεν είναι ξεκάθαρο αν η πρωτεΐνη προκαλεί αυξημένη μακροζωία ή εντονότερη θνησιμότητα. Οι δίαιτες με χαμηλή συγκέντρωση ή χωρίς καθόλου πρωτεΐνη, αυξάνουν τη θνησιμότητα (Niyazi et al., 2004). Σε αντίθεση οι Carey et al., (1995), αναφέρουν υψηλότερη θνησιμότητα στα άτομα που τρέφονται σε ζάχαρη και πρωτεΐνη σε σύγκριση με τα αντίστοιχα που τρέφονται μόνο με ζάχαρη. Η μη πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή, αυξάνει την μακροβιότητα σε συγκεκριμένες περιπτώσεις (Carey et al. 2002a). Η πρωτεΐνη όταν παρέχεται περιοδικά σε συνδυασμό με την ζάχαρη φαίνεται να επιδρά θετικά στη μακροβιότητα (Papanastasiou et al., 2019; Carey et al., 2002a; 2002b; 1999), σε σύγκριση με τις δίαιτες που περιέχουν μόνο υδατάνθρακες (ζάχαρη), που εν αντιθέσει προσδίδουν σαφώς υψηλότερα ποσοστά επιβίωσης από ότι όταν τα άτομα υποβάλλονται σε στέρηση τροφής (Kaspi et al., 2000). Σε άλλες μελέτες η πρωτεϊνική στέρηση επιδρά αρνητικά στο προσδόκιμο επιβίωσης και στην σεξουαλική ωρίμανση, όταν συμβαίνει σε νεαρές ηλικίες και σχετίζεται αρνητικά με την επιβίωση όταν συμβαίνει σε γηραιότερα άτομα (Papanastasiou et al., 2019). Η ύπαρξη πρωτεΐνης στην τροφή προάγει τη σεξουαλική ωρίμανση, με τα αρσενικά να εμφανίζουν υψηλότερα επίπεδα σεξουαλικού καλέσματος και τα θηλυκά μεγαλύτερα ποσοστά ωοτοκίας (Gomulski et al., 2012; Παπαναστασίου, 2014; Carey et al., 1995). Νεότερες μελέτες, αποδεικνύουν πως η λήψη πρωτεΐνης αυξάνει, ταυτόχρονα, τα επίπεδα επιβίωσης και αναπαραγωγής και στα δύο φύλα σε σύγκριση με τροφές που περιέχουν αποκλειστικά ζάχαρη, ειδικότερα όταν οι μελέτες αναφέρονται σε εργαστηριακούς πληθυσμούς (Barry et al., 2007; Παπαναστασίου, 2014; Harwood et al., 2013; Placido-Silva et al., 2006).

Στο φυσικό περιβάλλον, η εύρεση πρωτεϊνούχων τροφών από τα ενήλικα αποτελεί μια δύσκολη και επίπονη διαδικασία, που έχει ως αποτέλεσμα, την «οικονομικότερη» και στοχευμένη χρησιμοποίηση των διαθέσιμων θρεπτικών συστατικών από τους άγριους πληθυσμούς, σε σύγκριση με τους εργαστηριακούς, γεγονός που τους καθιστά μακροβιότερους και λιγότερο ευάλωτους στην αστία και τη στέρηση πρωτεΐνης (Placido-Silva et al., 2006). Όμως, οι Barry et al. (2007), διευκρινίζουν πως η υδρολυμένη μαγιά (yeast hydrolysate), που συνήθως χρησιμοποιείται στις έρευνες, ως πηγή πρωτεΐνης και άλλων θρεπτικών συστατικών, προσδίδει μακροβιότητα στα έντομα λόγω της επίδρασης του μορίων αζώτου και των αμινοξέων που εμπεριέχονται σε αυτήν, και όχι λόγω της πρωτεΐνης αποκλειστικά. Η μακροβιότητα συσχετίζεται με την ποιότητα της τροφής καθ' όλη την διάρκεια ζωής του εντόμου. Τα νεαρά άτομα, επιδεικνύουν υψηλότερη αντοχή στον υποσιτισμό και στην έλλειψη θρεπτικών στοιχείων, καθώς διαθέτουν μεγαλύτερα ενεργειακά αποθέματα (λιπίδια) από

το προνομφικό στάδιο. Τα επίπεδα των αποθεμάτων αυτών μειώνονται, καθώς ο μεταβολισμός αλλοιώνεται, λόγω επιδείνωσης της φυσικής κατάστασης με την γήρανση (Nestel et al., 2005).

1.2.5 Διαφορές στον τρόπο εκδήλωσης σεξουαλικής συμπεριφοράς μεταξύ αρσενικών και θηλυκών

Τα δύο φύλα διαφοροποιούνται στον τρόπο εκδήλωσης της σεξουαλικής συμπεριφοράς με αποτέλεσμα η ύπαρξη και η διαχείριση των θρεπτικών συστατικών στην τροφή να τα επηρεάζει με διπλό τρόπο. Η αλληλεπίδραση της ποιότητας της τροφής και της συνολικής σεξουαλικής συμπεριφοράς έχει αντίκτυπο στην αναπαραγωγική επιτυχία των ενθικών (Aluja et al., 2009; Davies et al., 2005; Gomulski et al., 2012). Τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου είναι μονογαμικά ή ολιγογαμικά με αποτέλεσμα να συζευγνύονται με ένα ή λίγα αρσενικά καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους, σε αντίθεση με τα αρσενικά που είναι πολυγαμικά και επιδιώκουν μεγάλο αριθμό συζεύξεων στη διάρκεια της ζωής τους, προκειμένου να αυξήσουν την αρμοστικότητα τους (Papadopoulos et al., 2010 και πηγές που αναφέρει). Τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου είναι βραχύβια σε σύγκριση με τα αρσενικά, καθώς το κόστος αναπαραγωγής επιδρά αρνητικά στο προσδόκιμο ζωής τους, σε αντίθεση με άλλα είδη εντόμων στα οποία ισχύει η γενίκευση της μακροβιότητας των θηλυκών (Carey, 2002b; 1984; 2011; Papadopoulos et al., 2002; Diamantidis et al. 2009; Muller et al., 1997; Placido- Silva et al., 2006). Σε βιοδημογραφικές αναλύσεις των Carey et al. (1995), όταν η αναφορά πραγματοποιείται σε επίπεδο κοορτής, τότε το προσδόκιμο ζωής των αρσενικών είναι υψηλότερο των θηλυκών, ενώ το τελευταίο άτομο που θα πεθάνει έχει τέσσερις φορές περισσότερες πιθανότητες να είναι θηλυκό. Σε επίπεδο πληθυσμού, η θνησιμότητα συνήθως ξεκινά με το πέρας της μέγιστης αναπαραγωγής (Muller et al., 2009; Muller et al., 2001). Τα θηλυκά παράγουν περισσότερους και ποιοτικότερους απογόνους, σε νεαρές ηλικίες (Carey, 1982; Papadopoulos et al., 2002) ανεξάρτητα από την ηλικία του αρσενικού που θα συζευχθούν, καθώς η επιτυχημένη σύζευξη των αρσενικών δεν επηρεάζεται σημαντικά από την ηλικία (Παπαναστασίου, 2014; Liedo et al., 2002). Ενδεικτικά, σε δύο μελέτες εμφανίζονται υψηλά ποσοστά επιβίωσης στις νεαρές ηλικίες, με τον αυξανόμενο ρυθμό θνησιμότητας να εμφανίζεται για τα θηλυκά από την ημέρα 40 μέχρι και την ηλικία των 60 ημερών, από την οποία και έπειτα, τα ποσοστά θνησιμότητας ισορροπούνται για τα δύο φύλα (Carey et al., 1995; Papadopoulos et al., 2002). Σημαντικό παράγοντα μακροβιότητας και για τα δύο φύλα αποτελεί ο συνωστισμός και οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, καθώς αποτελούν συνθήκες πρόκλησης επαναλαμβανόμενων συζεύξεων, και διαρκούς ανταγωνισμού (Papadopoulos et al., 2010; Gaskin et al., 2002). Πιο συγκεκριμένα, η αλληλεπίδραση των αρσενικών ή θηλυκών με άτομα του ίδιου φύλου δεν επέφερε σημαντική

μείωση στο προσδόκιμο επιβίωσης τους, σε αντίθεση με τη σύζευξη που προκάλεσε μείωση της διάρκειας ζωής και των δύο φύλων (Papadopoulos et al., 2010; Gaskin et al., 2002).

Τα παρθένα άτομα και στα δύο φύλα είναι μακροβιότερα και φαίνεται να ελκύονται περισσότερο από τους καρπούς και τα φύλλα των ξενιστών σε σύγκριση με τα αναπαραγωγικά ώριμα (Davies et al., 2005; Sollai et al., 2020). Τα αναπαραγωγικά ώριμα άτομα όταν υποβάλλονται σε τροφικούς περιορισμούς εμφανίζουν υψηλότερη θνησιμότητα (Davies et al., 2005). Το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών απαιτεί την ύπαρξη πρωτεΐνης στην τροφή καθώς είναι τμήμα μιας συνολικής συμπεριφοράς ερωτοτροπίας που πραγματοποιεί το αρσενικό και εξαρτάται άμεσα από την κατανομή της ενέργειας, που επενδύει στις εκάστοτε βιολογικές διαδικασίες (Carey and Molleman, 2010). Το μεγαλύτερο ενεργειακό κόστος επενδύεται στην συνολική σεξουαλική συμπεριφορά. Όμως, η συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος, παρουσιάζει θετική συσχέτιση με την επιβίωση και αποτελεί δείκτη μακροβιότητας (Παπαναστασίου, 2014; Papadopoulos et al., 2004; 2010; Yuval et al., 1998; Warburg and Yuval, 1997). Για να προσελκύσουν τα θηλυκά προς σύζευξη τα αρσενικά δημιουργούν ομάδες λίγων σχετικά ατόμων που εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα με σχετική έκλυση φερομόνης. Οι ομάδες αυτές είναι ευρέως γνωστές ως συναθροίσεις τύπου 'lek' (Papadopoulos et al., 1998; Kaspi et al., 2000). Η επιτυχία σύζευξης των αρσενικών εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ύπαρξη πρωτεΐνης στην τροφή. Πράγματι το σεξουαλικό κάλεσμα στα αρσενικά που τρέφονται με τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη ξεκινά σε νεαρές ηλικίες και παρουσιάζει μεγαλύτερη συχνότητα και διάρκεια σε σχέση με τα αντίστοιχα που τρέφονται σε ζάχαρη (Diamantidis et al., 2008; Παπαναστασίου, 2014; Davies et al., 2005). Επιπρόσθετα, η πρωτεΐνη επιδρά σημαντικά στην εντονότερη συμμετοχή στα 'leks', στην μακροβιότητα, στην αρμοστικότητα και την επιλογή από τα θηλυκά για σύζευξη (Zhang et al., 2006; Papadopoulos et al., 1998; Yuval et al., 2002; Shelly et al., 2002a; 2002b; 2003). Τα αποτελέσματα της μελέτης των Bravo et al. (2009), δεν έδειξαν θετική συσχέτιση της ύπαρξης πρωτεΐνης με την επιτυχημένη σύζευξη. Φαίνεται πως μόνο το 20-50% των θηλυκών συζευγνύετε περισσότερες από μία φορές στη διάρκεια της ζωής τους (Bonizzoni et al., 2002; 2006; Gavriel et al., 2009). Τα θηλυκά συνήθως επιλέγουν το νεότερο και πιο «εύρωστο» αρσενικό που συνήθως λαμβάνει και την ευνοϊκότερη θέση στο 'lek' (Shelly 2018; Shelly et al., 2011). Τα θηλυκά εν αντιθέσει με τα αρσενικά, εμφανίζουν δύο μορφές γήρανσης ανάλογα με την παρουσία πρωτεΐνης στην τροφή και την ωοπαραγωγή (Carey et al., 1998). Στην πρώτη περίπτωση όταν τρέφονται μόνο με ζάχαρη παραμένουν σε στάση αναμονής (waiting mode), όπου η αναπαραγωγή και η θνησιμότητα κυμαίνονται σε χαμηλά επίπεδα, ενώ στην δεύτερη περίπτωση, η παρουσία πρωτεΐνης επιδρά θετικά στην ωοτοκία την οποία και διαδέχεται σταδιακά η γήρανση και μετέπειτα η θνησιμότητα (Carey et al., 1998a; 1998b). Η

πρωτεΐνη στην τροφή των θηλυκών προσδίδει υψηλά επίπεδα ωτοκίας στις πλείστες των περιπτώσεων (Carey 2002a; 2002b; Harwood et al., 2013) αλλά το προσδόκιμο ζωής τους παρουσιάζει διακυμάνσεις ανάλογα την ποσότητα της πρωτεΐνης στην τροφή και την περιοδικότητα που το ενήλικο θηλυκό λαμβάνει την εκάστοτε διαίτα (Carey et al., 2002a). Οι Chapman et al. (1998), αναφέρουν πως η μακροβιότητα των θηλυκών εξαρτάται και από την σεξουαλική δραστηριότητα καθώς τα παρθένα θηλυκά επιβίωσαν για μεγαλύτερα διαστήματα σε σύγκριση με τα συζευγμένα.

1.2.6. Συσχέτιση ηλικίας και ωοπαραγωγής

Η κατανομή των παραγόμενων αυγών σε όλα τα στάδια ζωής του εντόμου, είναι εκ φύσεως συνδεδεμένη με τους μηχανισμούς προσαρμογής και αντοχής των διαφορετικών πληθυσμών, σε πλήθος περιβαλλοντικών συνθηκών (Roff, 2001). Η διασπορά της ωοπαραγωγής στα διάφορα ηλικιακά στάδια των ενήλικων θηλυκών, της μύγας της Μεσογείου, συσχετίζεται με την γήρανση και τη θνησιμότητα των επιμέρους ατόμων της εκάστοτε εξεταζόμενης κοορτής (Novoseltsev et al., 2004). Η ενήλικη ζωή των θηλυκών μπορεί να χωριστεί σε τρεις περιόδους. Η πρώτη ξεκινάει από την ημέρα εξόδου του ενήλικου από το νυμφικό περίβλημα, ονομάζεται στάδιο προωτοκίας και σεξουαλικής ωρίμανσης, και διαρκεί έως την αναπαραγωγική ωρίμανση του θηλυκού. Η δεύτερη περίοδος περιλαμβάνει εκείνες τις ημέρες ζωής κατά τις οποίες πραγματοποιείται το σύνολο της ωοπαραγωγής και των αναπαραγωγικών επεισοδίων, και ονομάζεται ώριμη αναπαραγωγική ηλικία. Η τρίτη περίοδος αφορά την περίοδο πριν το θάνατο κατά την οποία το θηλυκό πλέον έχει σταματήσει να ωτοκεί και ονομάζεται μετά-αναπαραγωγικό στάδιο ή περίοδος μετά την ωτοκία (Novoseltsev et al., 2004). Σύμφωνα με το μονέτλο των Muller et al. (2001), η έναρξη της ωτοκίας σημειώνεται από την 5^η έως τη 17^η ημέρα της ζωής του θηλυκού. Κατά τις επόμενες ημέρες το θηλυκό αποδίδει το μέγιστο της ωοπαραγωγής του και σταδιακά τα επίπεδα ωοπαραγωγής μειώνονται με την άυξηση της ηλικίας. Τα θηλυκά μετά το μέγιστο ωοπαραγωγής στα αρχικά στάδια της ζωής τους, εξαντλούν ραγδαία τα θρεπτικά τους αποθέματα και τείνουν στο θάνατο γρηγορότερα, από ότι αυτά που ωτοκοούν προδευτικά τα υψηλότερα ποσοστά ωτοκίας και η μείωση πραγματοποιείται σταδιακά με το πέρασμα των ημερών (Muller et al., 2001). Τα θρεπτικά συστατικά που λαμβάνονται μέσω της τροφής επηρεάζουν τον μεταβολισμό και την κατανομή της ενέργειας στις διάφορες βιολογικές ανάγκες του εντόμου, εμφανίζοντας ποικίλες ιδιότητες στις διαφορετικές ηλικιακές κλάσεις, της ενήλικης ζωής τους (Kouloussis et al., 2017). Έτσι, τα νεαρά άτομα διαθέτουν ευέλικτο μεταβολικό προφίλ και μεγαλύτερα ενεργειακά αποθέματα, που σε συνθήκες έλλειψης θρεπτικών, θυσιάζουν την αναπαραγωγή προς όφελος της επιβίωσης. Αντίθετα,

τα γηραιότερα άτομα φέρουν εξασθενημένο μεταβολισμό και προτεραιότητα επένδυσης θρεπτικών αποτελεί για αυτά, η αναπαραγωγή με κάθε κόστος (Papanastasiou et al., 2013; Nestel et al., 2005).

Εξετάζοντας γεωγραφικά απομωνομένους πληθυσμούς, από διαφορετικά σημεία του πλανήτη, παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφορές στη συσχέτιση της ηλικίας και της ωοπαραγωγής, των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (Muller et al., 2009; Diamantidis et al., 2009). Στους μακροβιότερους πληθυσμούς που ενδημούν σε εύκρατα κλίματα, η σεξουαλική ωρίμαση και τα μέγιστα επίπεδα ωοτοκίας επήλθαν πολύ αργότερα, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των βραχύβιων πληθυσμών, που προέρχονταν από τροπικές περιοχές και ο κύκλος αναπαραγωγής τους ήταν συντομότερος. Η περίοδος πρωτοκίας και μετα-ωοτοκίας διέφεραν επίσης σημαντικά. Όπως προαναφέρθηκε, οι διαφορετικής γεωγραφικής προέλευσης πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου, αναπτύσσουν στρατηγικές αναπαραγωγής και επιβίωσης σύμφωνα με τις εκάστοτε περιβαλλοντικές συνθήκες του ενδιαίτηματος και την διαθεσιμότητα των ξενιστών (Diamantidis et al., 2009). Παρόμοια αποτελέσματα διαφοροποίησης των δημογραφικών χαρακτηριστικών αντλήθηκαν και από μελέτες στις οποίες συγκρίθηκαν εργαστηριακοί με άγριους πληθυσμούς. Οι εργαστηριακοί πληθυσμοί είναι βραχύβιοι, ωριμάζουν ταχύτερα αναπαραγωγικά και παράγουν περισσότερα αυγά από τους μακροβιότερους, άγριους πληθυσμούς, που η αναπαραγωγική τους ικανότητα σε συνθήκες εργαστηρίου είναι σαφώς χαμηλότερη (Placido-Silva., 2006; Vargas and Carey, 1989; Souza et al., 1988; Sarakatsanou et al., 2011).

1.2.7. Συσχέτιση ηλικίας και ημερήσιας δραστηριότητας

Η επίδραση της ηλικίας στην καθημερινή δραστηριότητα των εντόμων μελετάται εκτενώς τα τελευταία είκοσι χρόνια, παρέχοντας πληροφορίες που συνδέονται με την μελέτη της λειτουργικής γήρανσης των οργανισμών (He and Jasper, 2014). Με την πάροδο του χρόνου, επέρχεται η γήρανση του λειτουργικού συστήματος, η οποία συνεπάγεται μια προοδευτική επιδείνωση της ικανότητας συντήρησης της ομοιόστασης και των φυσιολογικών λειτουργιών στα επιθυμητά επίπεδα για τον οργανισμό (Toroser et al., 2007).

Η πληθώρα των μελετών στο *D. melanogaster*, συσχετίζει τη γήρανση με συγκεκριμένες καθημερινές συμπεριφορές του εντόμου που φαίνεται να διαφοροποιούνται σε βάθος χρόνου, όπως η ημερήσια δραστηριότητα, η αρνητική γεωταξία και οι κερκάδιοι ρυθμοί (Ratliff et al., 2015; Iliadi and Boulianne, 2010; Simon et al., 2006). Οι διαφοροποιήσεις αποδίδονται συνήθως στα επίπεδα ντοπαμίνης και σύνθεσης λιπιδίων, καθώς η ντοπαμίνη επιδρά στην μετάδοση των νευρικών ερεθισμάτων του εγκεφάλου και τα λιπίδια στο μεταβολικό προφίλ του οργανισμού (Pujol-Lereis et al., 2012;

Vermeulen et al., 2006). Η εκφύλιση της γεωταξίας και της καθημερινής δραστηριότητας επέρχεται σε ηλικίες 2-3 εβδομάδων, ενώ αυτή των κirkάδιων ρυθμών σε ηλικίες 6-7 εβδομάδων αποδεικνύοντας πως η ηλικία επιδρά διαφορετικά στις εκάστοτε συμπεριφορές του *D. melanogaster* (Ratcliff et al., 2015). Επίσης, η συχνότητα βάδισης, πτήσης και διατροφής είναι εντονότερες στα αρχικά στάδια της ζωής του εντόμου σε αντίθεση με τις συμπεριφορές αδράνειας (ξεκούρασης- resting) και περιποίησης που παραμένουν στα ίδια επίπεδα παρά την γήρανση (Carey et al., 2006). Σε έρευνα των Ratcliff et al. (2015), αρσενικά και θηλυκά του *D. melanogaster*, αποδεικνύεται πως έχουν διαφορετικά επίπεδα ημερήσιας δραστηριότητας, επίσης με το πέρασμα τεσσάρων εβδομάδων ενήλικης ζωής, παρουσιάζουν εντονότερη νυχτερινή δραστηριότητα, σε σχέση με τις νεότερες ηλικίες που αποδίδεται πιθανώς τον εκφυλισμό του νευρικού συστήματος του εγκεφάλου με την πάροδο του χρόνου (Ratcliff et al., 2015).

Περιορισμένος είναι ο αριθμός των μελετών της δραστηριότητας σε σχέση με την ηλικία, για τα είδη της οικογένειας των Tephritidae. Τα ενήλικα του *Bactrocera tryoni*, στα πρώτα στάδια της ζωής τους έχουν υψηλά ποσοστά δραστηριότητας που σχετίζονται άμεσα με την προέλευση του πληθυσμού και την ποιότητα τροφής (βλ. Εισαγωγή 6.1). Τα αρσενικά είναι περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά και με το πέρασμα των ημερών η δραστηριότητα μειώνεται σταδιακά και για τα δύο φύλα (Dominiak et al., 2014; Fanson et al., 2013; Prenter et al., 2013; Weldon et al., 2010). Η αυξημένη κινητικότητα των νεαρών ατόμων σε σύγκριση με τα γηραιότερα παρατηρήθηκε και στο είδος *Anastrepha ludens* μέσω του συστήματος BMS (Behavioral Monitoring System) (Zou et al., 2011; Chiu et al., 2013). Τα ενήλικα που τρέφονταν με μόνο ζάχαρη παρουσίασαν αυξημένη δραστηριότητα στην πάροδο του χρόνου σε σύγκριση με τα αντίστοιχα που τρέφονταν με τροφή που περιείχε, ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Όσον αφορά, την μύγα της Μεσογείου, η ημερήσια δραστηριότητα μειώνεται προοδευτικά με την αύξηση της ηλικίας και στα δύο φύλα. Τα αρσενικά παρουσιάζονται περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά ανεξαρτήτου ηλικίας και τύπου τροφής. Τις πρώτες 25 ημέρες ενήλικης ζωής, η συχνότητα εκδήλωσης δραστηριότητας είναι αυξημένη, με τα αρσενικά μέχρι και την ηλικία των 50 ημερών, να παραμένουν στα ίδια επίπεδα, σε αντίθεση με τα θηλυκά στα οποία παρατηρείται σταδιακή μείωση της συχνότητας. Στις μεγάλες ηλικιακές κλάσεις πέρα των 80 ημερών, η δραστηριότητα και για τα δύο φύλα παραμένει σε χαμηλά επίπεδα (Παπαναστασίου, 2014). Δύο συμπεριφορές που σχετίζονται με την καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων, το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών και η ύπτια συμπεριφορά (supine) και για τα δύο φύλα, φαίνεται να αποτελούν δείκτες μακροβιότητας και γήρανσης (Papadopoulos et al., 2002b; 2004). Η ύπτια συμπεριφορά καταγράφεται σπάνια μέχρι την ηλικία των 45 ημερών και για τα δύο φύλα, ενώ τα θηλυκά άτομα την εκδηλώνουν εντονότερα από τα αρσενικά

(Παπαναστασίου, 2014). Η συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών, εξαρτάται άμεσα από την ποιότητα της τροφής και η συνέχεια εμφάνισής της σε γηραιότερα αρσενικά, αποδεικνύει την διαφοροποίηση του τρόπου επίδρασης της ηλικίας, σε διαφορετικές καθημερινές δραστηριότητες. Η συσσώρευση των μεταλλάξεων και η μείωση αντικατάστασης των εκφυλισμένων κυττάρων με την αύξηση των ηλικιών, φαίνεται να συνδέεται με την σταδιακή ύφεση στην συχνότητα εκδήλωσης καθημερινών δραστηριοτήτων και την έναρξη εκδήλωσης νέων, όπως η ύπτια συμπεριφορά (Παπαναστασίου, 2014; Rakshit et al., 2012).

1.3. Σκοπός της παρούσας διατριβής

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και η καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου επηρεάζονται ποικιλοτρόπως από την τροφή και το περιβάλλον. Στις μελέτες της καθημερινής δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου ακολουθούνται συγκεκριμένες μεθοδολογίες πρωτόκολλων διατροφής και διατήρησης των ενηλίκων σε κλουβιά. Η διερεύνηση της καθημερινής δραστηριότητας της μύγας της Μεσογείου, περιλαμβάνει λίγες μελέτες στις οποίες η καταγραφή βασίζεται στην ανθρώπινη παρατήρηση. Σε άλλα είδη των οικογενειών *Tephritidae* και *Drosophilidae*, η παρατήρηση της καθημερινής δραστηριότητας πραγματοποιείται μέσω ηλεκτρονικών συστημάτων καταγραφής. Ως επί το πλείστον, οι συγκεκριμένες μελέτες διαρκούν μερικές ημέρες και χρησιμοποιούν τα συστήματα DAMsystem (*Drosophila Activity Monitor*) και LAMsystem (*Locomotor Activity Monitor*). Το μοναδικό σύστημα ηλεκτρονικής καταγραφής που έχει χρησιμοποιηθεί για όλη την διάρκεια ζωής του ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου είναι το BMS (Zou et al., 2011). Η διατήρηση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου για την αξιολόγηση των δημογραφικών χαρακτηριστικών και της δραστηριότητάς τους πραγματοποιείται σε ατομικά κλουβιά, που αποτελούνται συνήθως από πλαστικά ποτήρια 300- 400 ml. Η τροφή των ενηλίκων στις μελέτες περιέχει συνήθως πηγές θρεπτικών στοιχείων όπως είναι η υδρολυμένη μαγιά και η κρυσταλλική ζάχαρη, όπου οι συγκεντρώσεις και οι συνδυασμοί ποικίλουν ανάλογα τις μεταχειρίσεις και τα πρωτόκολλα που εφαρμόζονται. Η παροχή νερού στα κλουβιά γίνεται από φιαλίδιο με φυτίλι που προσαρμόζεται με κατάλληλο τρόπο, ώστε να βρέχεται από νερό και να το παρέχει στο ενήλικο έντομο. Αυτή η διαδικασία διατήρησης δεν αποσαφηνίζει τις ακριβείς ποσότητες παροχής νερού και τροφής στο ενήλικο και δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε κλουβιά μικρής χωρητικότητας.

Σκοπός της παρούσας Μεταπτυχιακής διατριβής ήταν η καταγραφή της καθημερινής δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και ο συσχετισμός αυτής με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά τους, χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής LAM25system (Trikinetics). Στους σωλήνες του συγκεκριμένου συστήματος δεν μπορεί να εφαρμοστεί η κλασική δίαιτα εκτροφών της μύγας της Μεσογείου καθώς το υλικό κατασκευής τους (γυαλί) δεν τροποποιείται για την παροχή νερού από φυτίλι όπως στα κλασικά ατομικά κλουβιά. Επίσης το τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταμέτρηση των αυγών. Επομένως για την διατήρηση των ενηλίκων στους σωλήνες του συστήματος και την κάλυψη των αναγκών τους σε τροφή και νερό, αναπτύχθηκε μια νέα τροφή που βασίζεται σε γέλη από άγαρ, και παρέχει ταυτόχρονα το νερό και τα θρεπτικά στα ενήλικα. Για την καταμέτρηση των αυγών και των αερισμό στο εσωτερικό του σωλήνα προσαρμόστηκε στο άκρο τους, οργανίνα μικρής διατομής. Η προαναφερθείσα δίαιτα σε συνδυασμό με την προσαρμογή της οργανίνας χρησιμοποιήθηκαν στους σωλήνες του ηλεκτρονικού συστήματος καταγραφής της ημερήσιας δραστηριότητας, και τα αποτελέσματα συσχετίστηκαν με τα αντίστοιχα δημογραφικά χαρακτηριστικά επιβίωσης και ωτοκίας.

Κεφάλαιο 2. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Συνθήκες εργαστηρίου

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε ειδικά διαμορφωμένα δωμάτια ελεγχόμενων συνθηκών (εντομοδωμάτια) (Εικ 2.1), στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από τον Σεπτέμβριο του 2019 έως τον Ιανουάριο 2021. Στα εντομοδωμάτια επικρατούσαν σταθερές συνθήκες με θερμοκρασία 25 ± 1 °C και σχετική υγρασία 65 ± 5 %. Οι παραπάνω συνθήκες διατηρούνταν και ρυθμιζόνταν από κλιματικές μονάδες τύπου STULZ CompTrol 1001 (Diamar Ltd.) και από υγραντήρα τύπου Rohson R-9507, καθ' όλη την διάρκεια του έτους. Η φωτοπερίοδος ήταν 14 ώρες φως και 10 ώρες σκοτάδι (14:10 - Φ:Σ, L:D 14:10) με την έναρξη του φωτός στις 7:00 π.μ. και τη λήξη στις 21:00 μ.μ. Η παροχή του τεχνητού φωτός προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου έντασης 800-1000 lux και συμπληρωνόταν από το φυσικό φως τεσσάρων παραθύρων οροφής που προϋπήρχαν στο εντομοδωμάτιο. Η ρύθμιση της φωτοπεριόδου πραγματοποιούνταν με χρονοδιακόπτες προσαρμοσμένους στο ηλεκτρολογικό σύστημα του δωματίου.



Εικόνα 2.1: Εντομοδωμάτιο του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, στο οποίο επικρατούν σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και φωτοπεριόδου. Οι κόκκινες σημάνσεις καταδεικνύουν από δεξιά προς τα αριστερά τον χρονοδιακόπτη ρύθμισης φωτοπεριόδου, την λεκάνη ανάπτυξης των προνυμφών, τα ξύλινα κλουβιά διατήρησης ενηλίκων και το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής της δραστηριότητας ενηλίκων LAM25system.

2.2. Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής

Στα πειράματα της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα (αρσενικά και θηλυκά) της μύγας της Μεσογείου που προέρχονταν από την εργαστηριακή φυλή «Μπενάκειο». Η συγκεκριμένη εργαστηριακή φυλή εκτρέφεται για περισσότερο από 30 χρόνια σε συνθήκες εργαστηρίου. Τα αυγά συλλέγονταν από τεχνητά υποστρώματα ωτοκίας που προσομοιάζουν καρπό ξениστή του εντόμου (Εικ.2.2). Το υπόστρωμα ωτοκίας αποτελείται από ένα πλαστικό κόκκινο ημισφαίριο διαμέτρου 5 cm και φέρει 40-50 οπές διαμέτρου 1 mm ομοιόμορφα κατανεμημένες σε όλη την επιφάνειά του. Το πλαστικό ημισφαίριο προσαρμόζεται με σιλικόνη στο καπάκι πλαστικού τριβλίου petri (διαμέτρου 5,5 cm) στο οποίο έχει προηγουμένως δημιουργηθεί κατάλληλη οπή. Στη βάση του τριβλίου τοποθετούνταν μικρό φιαλίδιο με φυσικό χυμό πορτοκαλιού με στόχο την προσέλκυση των θηλυκών στο υπόστρωμα ωτοκίας.

Τα έντομα εκτροφής διατηρούνταν σε ξύλινα κλουβιά διαστάσεων 30 x 30 x 30 cm. Η τροφή των ενθλίκων αποτελούταν από 100 ml νερού, 20 gr υδρολυμένης μαγιάς ως πηγή πρωτεΐνης (Yeast- Hydrolysate- Enzymatic, Biomedicals LLC, France) και 80 gr κρυσταλλικής ζάχαρης τα οποία αναδεύονται και από το μείγμα, με πιπέτα Paster, τοποθετούνται σε τριβλίο μήκους 9 cm σε μορφή σταγόνας (1 ml), το οποίο μεταφέρεται εντός του κλουβιού. Η διαδικασία συλλογής των αυγών περιλάμβανε την τοποθέτηση του υποστρώματος ωτοκίας, εντός του ξύλινου κλουβιού εκτροφής όπου αφηνόταν για 24 ώρες (Εικ 2.3). Στη συνέχεια, το υπόστρωμα ωτοκίας αφαιρούνταν από το κλουβί, τα αυγά συλλέγονταν με μαλακό πινέλο και απλώνονταν απαλά σε διατροφικά υποστρώματα που αποτελούνταν από δίσκους βάμβακος εμποτισμένους σε τροφή προνυμφών. Η τροφή των προνυμφών περιείχε 50 gr κρυσταλλική ζάχαρη, 50 gr μαγιά μπύρας (Brewer's yeast, Biomedicals LLC, France), 25 gr αλεύρι σόγιας, 1 gr άλατα (salt mixture), 0,75 gr προπιονικό νάτριο, 4 gr ασκορβικό οξύ και 4 gr κιτρικό οξύ. Τα παραπάνω υλικά αναμιγνύονταν και διαλύονταν σε 250 ml νερού (Boller, 1985). Κάθε δίσκος βάμβακος μετά την εμβάπτιση στην τροφή τοποθετούνταν σε αποστειρωμένο γυάλινο τριβλίο petri. Αμέσως μετά τη συλλογή τους από το υπόστρωμα ωτοκίας, τα αυγά κατανέμονταν ανά 100 ομοιόμορφα σε κάθε δίσκο βάμβακος και τα τριβλία τοποθετούνταν σε σκοτεινό μέρος εντός του εντομοδωματίου. Τρεις με τέσσερις ημέρες μετά, τα τριβλία με τις προνύμφες πρώτου σταδίου τοποθετούνταν σε πλαστικές λεκάνες, πάνω σε λεπτό στρώμα αποστειρωμένης άμμου. Την 7^η με 8^η ημέρα μετά τη συλλογή των αυγών ολοκληρωνόταν η προνυμφική ανάπτυξη και οι προνύμφες τελευταίου σταδίου εγκατέλειπαν το δίσκο βάμβακος και νυμφώνονταν στην άμμο (Εικ 2.4). Μετά την ολοκλήρωση της νύμφωσης (9^η ημέρα) η άμμος κοσκινιζόταν και οι νύμφες συλλέγονταν, σε ομάδες των 100, σε πλαστικά τριβλία. Τα τριβλία με τις νύμφες που προορίζονταν για τα

πειράματα της παρούσας διατριβής τοποθετούνταν σε κλουβιά Plexiglas διαστάσεων 20 × 20 × 20 cm, τα οποία έφεραν στις δύο πλευρές άνοιγμα καλυμμένο με οργανίνα για τον αερισμό του εσωτερικού τους. Η έξοδος των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα πραγματοποιούνταν την 15^η ημέρα από την ημέρα συλλογής των αυγών (6^η με 7^η ημέρα μετά τη νύμφωση).



Εικόνα 2.2: Τεχνητό υπόστρωμα ωτοκόκας που αποτελείται από κοίλο πλαστικό ημισφαίριο προσαρμοσμένο σε πλαστικό τριβλίο Petri. Διακρίνονται οι οπές όπου το θηλυκό εισάγει τον ωοθήτη και ωτοκοκεί.



Εικόνα 2.3: Ξύλινο κλουβί εκτροφής της μύγας της Μεσογείου



Εικόνα 2.4: Τριβλίο με δίσκο βάμβακος εμποτισμένο με τροφή προνυμφών, τοποθετημένο πάνω σε στρώμα αποστειρωμένης άμμου. Διακρίνονται οι προνύμφες τρίτου σταδίου

2.3. Δημιουργία τροφών

Για την αξιολόγηση της παροχής νερού και τροφής στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου αναπτύχθηκαν διαφορετικές τροφές κάποιες από τις οποίες ήταν σε μορφή γέλης από άγαρ.

Για την παρασκευή της τροφής “YS”, 20 gr υδρολυμένης μαγιάς (Yeast hydrolysate enzymatic, Biomedicals LLC, France) που αποτέλεσε πηγή πρωτεΐνης, 80 gr κρυσταλλικής ζάχαρης και 100 ml νερού αναμίχθηκαν και με τη βοήθεια πλαστικής πιπέτας Pasteur, μεταφέρθηκαν δέκα σταγόνες (1 ml η καθεμία) σε πλαστικό τριβλίο Petri διαμέτρου 5,5 cm. Η συγκεκριμένη τροφή περιέχει κρυσταλλική ζάχαρη και υδρολυμένη μαγιά (πηγή πρωτεΐνης) σε αναλογία 4:1.

Για την παρασκευή της γέλης “Agar” χρησιμοποιήθηκε 1 gr Agar-agar (BioScience, Carl Roth GmbH) και 100 ml νερό σε αναλογία 1:100. Η μίξη πραγματοποιήθηκε σε αποστειρωμένη γυάλινη κωνική φιάλη η οποία στη συνέχεια τοποθετήθηκε σε φούρνο μικροκυμάτων για 4 λεπτά έως το σημείο βρασμού. Έπειτα, το μίγμα μοιράστηκε σε πλαστικά τριβλία (διαμέτρου 5,5 cm) και αφέθηκε σε θερμοκρασία δωματίου μέχρι τη δημιουργία γέλης (gel). Το Agar-agar (άγαρ) είναι ζελατινώδης πολυσακχαρίτης και παράγεται μέσω της εκχύλισης κόκκινων θαλάσσιων φυκιών, του φύλου Rhodophyta (red algae). Αποτελεί συνδυασμό του πολυσακχαρίτη αγαρόζη και ενός μείγματος μικρότερων μορίων αγαροπικτίνης και πολυσακχαριτών (Armisen and Galatas 2009; Stephen et al., 2006) (βλ. Κεφ. 5).

Η τροφή “YSAgar” περιείχε άγαρ, κρυσταλλική ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 0,2:4:1:20 και αποτέλεσε παραλλαγή μιας εκ των συνταγών που παραθέτουν οι Chang et al., 2001. Για την παρασκευή της χρησιμοποιήθηκαν 20 gr κρυσταλλική ζάχαρη, 5 gr υδρολυμένη μαγιά, 1 gr άγαρ, 0,5 gr νιπαγίνη (Nipagin) και 100 ml νερό. Η προετοιμασία

πραγματοποιήθηκε ως εξής: Αρχικά τοποθετήθηκε το νερό σε μαγειρικό σκεύος πάνω σε θερμαινόμενη εστία. Έπειτα, προστέθηκε η ζάχαρη, η πρωτεΐνη και η νιπαγίνη και το μίγμα αναδεύτηκε έως ότου ομογενοποιηθούν τα υλικά, χωρίς όμως να φτάσει σε σημείο βρασμού. Συνεχίζοντας την ανάδευση, προστέθηκε το άγαρ, μέχρι το μείγμα να ομογενοποιηθεί εκ νέου. Τέλος, αφού αυξήθηκε η θερμότητα στην εστία και επετεύχθη ο βρασμός του μείγματος, το μαγειρικό σκεύος αποσύρθηκε από την εστία, και επί τόπου το μείγμα μοιράστηκε σε πλαστικά τριβλία Petri διαμέτρου 5,5 cm (5-10 ml του μείγματος στο καθένα). Τα τριβλία διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για δύο περίπου ώρες μέχρι τη σταθεροποίηση του μείγματος σε μορφή γέλης.

Οι επόμενες δύο μεταχειρίσεις “Agar+YS” και “YS+H₂O” περιλάμβαναν τις δίαιτες που περιγράφονται παραπάνω, οι οποίες διατίθεντο στα ενήλικα σε ξεχωριστά τριβλία/φιαλίδια. Συγκεκριμένα, τα έντομα που τρέφονταν με τη τροφή “YS+H₂O” είχαν πρόσβαση σε ένα τριβλίο με “YS” και σε ένα φιαλίδιο με νερό, ενώ τα έντομα που τρέφονταν με “Agar+YS” είχαν πρόσβαση ταυτόχρονα σε δύο τριβλία 5,5 cm εκ των οποίων το ένα περιείχε μόνο άγαρ με νερό (Agar: νερό 1:100) και το άλλο περιείχε “YS” (ζάχαρη: πρωτεΐνη: νερό 4:1:5). Τέλος, στις εναπομείνουσες μεταχειρίσεις τα έντομα είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό μέσω φιαλιδίου στην μεταχείριση “H₂O” και ούτε σε τροφή ούτε σε νερό στην περίπτωση της μεταχείρισης “Blank”.

2.4. Στατιστική ανάλυση

Οι αναλύσεις των αποτελεσμάτων της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας το λογιστικό πακέτο SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Σε κάθε κεφάλαιο ξεχωριστά περιγράφεται η αναλυτική στατιστική διαδικασία και τα στατιστικά μοντέλα που χρησιμοποιήθηκαν.

Κεφάλαιο 3. Επίδραση διαφορετικών μεταχειρίσεων παροχής τροφής και νερού, στην διάρκεια ζωής των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου

3.1. Εισαγωγή

Η διατήρηση των ενηλίκων ενός εντομολογικού είδους σε εργαστηριακές συνθήκες, απαιτεί την δημιουργία και την εφαρμογή, συγκεκριμένων τροφών που ανταποκρίνονται στις βιολογικές τους απαιτήσεις. Αρκετά είδη Διπτέρων που ανήκουν κυρίως στις οικογένειες Tephritidae και Drosophilidae, εκτρέφονται σε εργαστηριακές συνθήκες και χρησιμοποιούνται σε πλήθος μελετών. Η ισορροπία των απαραίτητων θρεπτικών στην καθημερινή διαίτα του εντόμου, καθορίζει σε μεγάλο βαθμό, την αρμοστικότητα του (Fanson et al., 2012). Η παροχή του νερού στην καθημερινή διαίτα της μύγας της Μεσογείου πραγματοποιείται συνήθως μέσω φιαλιδίων νερού με φυτίλι (Carey et al., 2002a; Carey et al. 1999; Diamantidis et al., 2008; Kouloussis et al., 2017; Papadopoulos et al., 1998). Σε κάποιες περιπτώσεις η τροφή προσφέρεται σε μορφή γέλης, που παράγεται με την προσθήκη άγαρ ή άλλων πηκτικών μέσων και καλύπτει ταυτόχρονα τις ανάγκες των ενήλικων εντόμων σε νερό και θρεπτικά στοιχεία (Chang et al., 2001; Niyazi et al., 2004).

Στην περίπτωση της μύγας της Μεσογείου, η διατήρηση των εντόμων κατά την εκτροφή σε εργαστηριακές συνθήκες ή σε συνθήκες μαζικής εκτροφής, περιλαμβάνει πληθώρα διατροφικών πρωτοκόλλων. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Ατομικής Ενέργειας - IAEA (International Atomic Energy Agency), προτείνει συγκεκριμένα πρωτόκολλα που περιλαμβάνουν την διαχείριση της τροφής και του νερού, κυρίως για την εξυπηρέτηση των αναγκών εφαρμογής της μεθόδου εξαπόλυσης των στείρων εντόμων SIT (Sterile Insect Technique), όπου απαιτείται μαζική εκτροφή και παραγωγή στείρων αρσενικών. Οι διάφορες δίαιτες εξετάζονται σε εργαστηριακές συνθήκες, με στόχο την κατανόηση της επίδρασης των θρεπτικών στοιχείων και συγκεντρώσεών τους στην συμπεριφορά, την αρμοστικότητα και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά (βλ. Κεφάλαιο 1, Εισαγωγή 1.2.4). Συνήθως, η διατήρηση των ενηλίκων πραγματοποιείται σε ξύλινα κλουβιά (30 x 30 x 30 cm), σε κλουβιά από Plexiglas (20 x 20 x 20 cm) ή σε ατομικά κλουβιά από πλαστικά ποτήρια χωρητικότητας 300-400 ml. Η τροφή στα ενήλικα παρέχεται σε στερεή μορφή (κρυσταλλική ζάχαρη) ή σε μορφή υγρών σταγόνων από μίξη κρυσταλλικής ζάχαρης, υδρολυμένης μαγιάς και νερού. Το νερό εμπεριέχεται σε φιαλίδιο και παρέχεται μέσω φυτιλιού τα ενήλικα (Carey et al., 2002a; 1999; Diamantidis et al., 2008; Kouloussis et al., 2017; Papadopoulos et al., 1998).

Στην έρευνα των Chang et al. (2001), αξιολογήθηκε η επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων των συστατικών της τροφής, στις βιολογικές

παραμέτρους των ενηλίκων τη μύγας της Μεσογείου. Βασιζόμενοι στην προνυμφική διατροφή, πρότειναν μια νέα δίαιτα για τα ενήλικα, σε μορφή γέλης με βάση το άγαρ, η οποία περιείχε κρυσταλλική ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά, βιταμίνες και άλατα. Η παροχή της συγκεκριμένης δίαιτας απέδωσε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά αναπαραγωγής και ωτοκίας σε σύγκριση με την κλασική τροφή. Τα θρεπτικά στοιχεία ήταν ομοιόμορφα κατανομημένα στην γέλη και η πρόσβαση σε αυτά κρίθηκε ευκολότερη, ενώ παρατηρήθηκε μεγαλύτερη εναπόθεση αυγών στη γέλη, λόγω της ύπαρξης θρεπτικών συστατικών στο διατροφικό υπόστρωμα, σε σύγκριση με το τεχνητό πλαστικό υπόστρωμα ωτοκίας. Η παροχή του νερού και στα δύο είδη τροφής που εξετάστηκαν πραγματοποιούνταν μέσω φιαλιδίου. Οι διαφορετικές αναλογίες ζάχαρης και υδρολυμένης μαγιάς σε γέλη με βάση το άγαρ, επίσης κατέδειξαν σημαντικές διαφορές στην αναπαραγωγική συμπεριφορά και την επιβίωση αρσενικών της μύγας της Μεσογείου (Niyazi et al., 2004). Στη συγκεκριμένη έρευνα μελετήθηκαν τέσσερις τροφές. Οι δύο πρώτες περιείχαν τα θρεπτικά συστατικά σε μορφή σκόνης με διαφορετικές συγκεντρώσεις ζάχαρης – πρωτεΐνης και το νερό παρεχόταν μέσω φιαλιδίου. Οι άλλες δύο ήταν σε μορφή γέλης με βάση το άγαρ και περιείχαν: α) 94.98% ζάχαρη, 4.95% άγαρ, 0.07% methyl paraben, και 1L νερό για κάθε 182 gr ξηράς ουσίας (CDEA/IAEA) και β) 81.43% ζάχαρη, 13.55% υδρολυμένη μαγιά, 4.95% άγαρ, 0.07% methyl paraben, και 1L νερό για κάθε 182 gr ξηράς ουσίας. Στις δύο αυτές τροφές δεν υπήρχε κάποια επιπλέον παροχή νερού ενώ και οι τέσσερις τροφές αξιολογήθηκαν μόνο σε αρσενικά. Η τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε μορφή γέλης, απέδωσε σημαντικά υψηλότερα ποσοστά σεξουαλικού καλέσματος και επιβίωσης σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τρεις τροφές σε εργαστηριακές συνθήκες.

Στο συγκεκριμένο κεφάλαιο εξετάστηκε η κάλυψη των αναγκών νερού για τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου, μέσω διατροφικού υποστρώματος σε μορφή γέλης με βάση το άγαρ. Η συγκεκριμένη τροφή δεν έχει δοκιμαστεί στο παρελθόν για την διατήρηση των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Η δημιουργία της γέλης με σκοπό την ταυτόχρονη κάλυψη των αναγκών σε τροφή και νερό, αποσκοπούσε στην μετέπειτα διατήρηση των ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) σε συμβατικούς σωλήνες του συστήματος LAM25system και παρουσιάζεται στα Κεφάλαια 4, 5 και 6.

3.2. Υλικά και μέθοδοι

Η επίδραση διαφορετικών τροφών στη διάρκεια ζωής ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου μελετήθηκε σε ομάδες αρσενικών και θηλυκών που τοποθετήθηκαν σε κλουβιά Plexiglas 20 × 20 × 20 cm (Εικ. 3.1). Αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περιβλήμα, δέκα αρσενικά και δέκα θηλυκά

τοποθετήθηκαν σε κάθε κλουβί. Συνολικά ελέγχθηκαν πέντε διαφορετικές τροφές που η διαδικασία παραγωγής τους περιγράφεται στο Κεφάλαιο 2.3. Η πρώτη τροφή (“YS”), περιείχε ζάχαρη και πρωτεΐνη σε υγρή μορφή. Η δεύτερη (“Agar”), ήταν γέλη από νερό και άγαρ. Η τρίτη (“YSAgar”), ήταν γέλη με βάση το άγαρ και περιείχε νερό, ζάχαρη και πρωτεΐνη. Η τέταρτη (“Agar + YS”), ήταν ο συνδυασμός της γέλης που περιείχε μόνο νερό και της τροφής που είχε ζάχαρη και πρωτεΐνη σε υγρή μορφή. Η πέμπτη (“YS + H₂O”), αποτελούνταν από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε υγρή μορφή. Στην πειραματική διαδικασία προστέθηκαν και ακόμη δύο μεταχειρίσεις ως μάρτυρες. Στην μία εκ των δύο τα έντομα είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό από φιαλίδιο (“H₂O”) και στην δεύτερη δεν είχαν πρόσβαση ούτε σε νερό ούτε σε τροφή. Η κάθε μεταχείριση αποτελούταν από 5 κλουβιά και έτσι χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 35 κλουβιά και 700 ενήλικα (350 αρσενικά και 350 θηλυκά). Κάθε τέσσερις ημέρες πραγματοποιούνταν ανανέωση της τροφής σε κάθε μεταχείριση για την αποφυγή αφυδάτωσης της και αλλοίωσής της από μικροοργανισμούς (μύκητες, βακτήρια). Επίσης, το νερό στις μεταχειρίσεις όπου παρέχόταν σε πλαστικό φιαλίδιο, ανανεωνόταν εβδομαδιαίως. Με καθημερινές παρατηρήσεις καταγράφονταν τα νεκρά άτομα σε κάθε κλουβί και μετά το θάνατο όλων των ατόμων υπολογίστηκε η διάρκεια ζωής τους.



Εικόνα 3.1: Κλουβιά Plexiglas όπου διατηρήθηκαν τα έντομα. Από αριστερά προς τα δεξιά διακρίνονται οι μεταχειρίσεις των διαφορετικών τροφών που εξετάστηκαν.

3.3. Στατιστική ανάλυση

Οι συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των ενηλίκων και των δύο φύλων στις μεταχειρίσεις των διαφορετικών τροφών ελέγχθηκαν με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model). Οι ανά δύο

συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση Kaplan- Meier (KM) και ο έλεγχος σημαντικότητας έγινε με το κριτήριο Log Rank Mantel-Cox.

3.4. Αποτελέσματα

Στα Διαγράμματα 3.1, 3.2 και 3.3 δίνονται οι καμπύλες επιβίωσης των ενηλίκων, και η διάρκεια ζωής αρσενικών και θηλυκών που διατηρούνταν στις επτά διαφορετικές μεταχειρίσεις. Το μοντέλο των αναλόγων κινδύνων του Cox έδειξε ότι, η διαφορετικές τροφές είχαν σημαντική επίδραση στην επιβίωση των ενηλίκων (Wald $\chi^2 = 258,24$, $df = 6$, $P < 0,001$) (Πίνακας 3.1). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών (Wald $\chi^2 = 1,90$, $df = 1$, $P = 0,168$) (Διαγράμματα 3.2, 3.3).

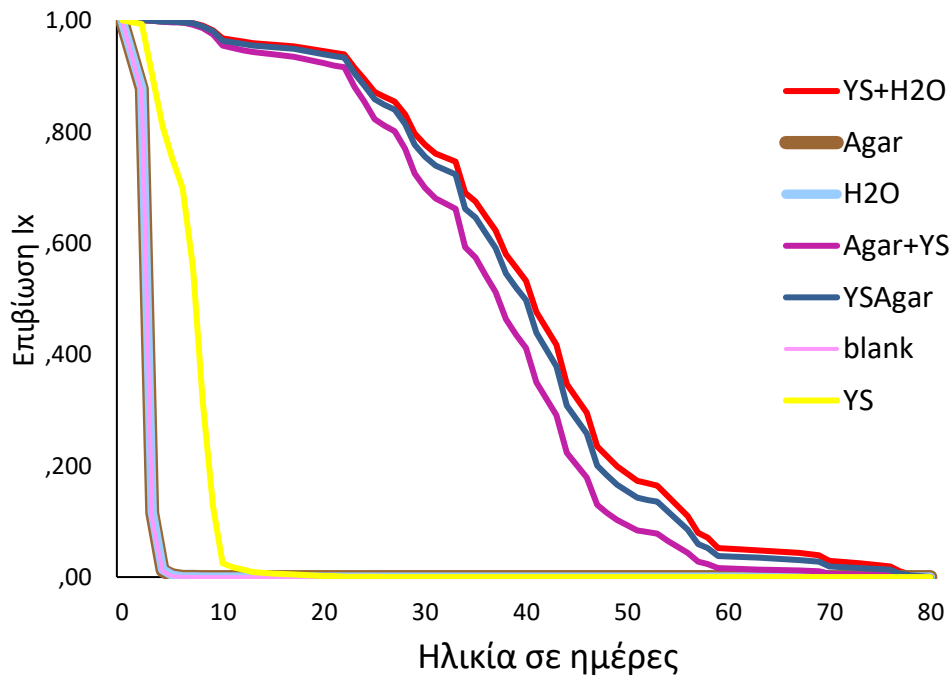
Τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση στις μεταχειρίσεις “YSAgar” “Agar+YS” και “YS+H₂O” ήταν μακροβιότερα σε σύγκριση με αυτά που είχαν πρόσβαση μόνο σε “YS” ($\chi^2_{\text{YSAgar}} = 214,11$, $\chi^2_{\text{Agar+YS}} = 198,453$, $\chi^2_{\text{YS+H}_2\text{O}} = 199,86$, $df = 1$, $P < 0,001$). Επίσης, τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση σε νερό και τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, έζησαν σημαντικά περισσότερο σε σχέση με αυτά που είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό, είτε αυτό παρεχόταν με φιαλίδιο ($\chi^2_{\text{YSAgar}} = 216,66$, $\chi^2_{\text{Agar+YS}} = 212,40$, $\chi^2_{\text{YS+H}_2\text{O}} = 216,45$, $df = 1$, $P < 0,001$) είτε μέσω γέλης ($\chi^2_{\text{YSAgar}} = 208,99$, $\chi^2_{\text{Agar+YS}} = 206,79$, $\chi^2_{\text{YS+H}_2\text{O}} = 208,54$, $df = 1$, $P < 0,001$) (Πίνακας 3.1), καθώς και σε σχέση με τα ενήλικα που δεν είχαν πρόσβαση σε τροφή και νερό ($\chi^2_{\text{YSAgar}} = 211,99$, $\chi^2_{\text{Agar+YS}} = 208,84$, $\chi^2_{\text{YS+H}_2\text{O}} = 211,98$, $df = 1$, $P < 0,001$) (Πίνακας 3.1).

Επιπλέον, οι ανά δύο συγκρίσεις, των μεταχειρίσεων παροχής τροφής με ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό, “YSAgar” “Agar+YS” και “YS+H₂O”, κατέδειξαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση των ενηλίκων. Συγκεκριμένα, η διάρκεια ζωής των ενηλίκων που είχαν πρόσβαση στην τροφή “Agar+YS” στην οποία το νερό παρεχόταν υπό μορφή γέλης που περιείχε άγαρ, ήταν μικρότερη από ότι των ενηλίκων που είχαν πρόσβαση στην κλασική δίαιτα “YS+H₂O”, όπου το νερό παρεχόταν με το φιαλίδιο ($\chi^2 = 4,55$, $df = 1$, $P < 0,05$). Ανάμεσα στις μεταχειρίσεις “YSAgar” και “Agar+YS”, όπου το νερό παρεχόταν σε μορφή γέλης δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση των ενηλίκων ($\chi^2 = 3,297$, $df = 1$, $P = 0,069$). Τέλος, η επιβίωση των ενηλίκων που διατηρούνταν στην κλασική δίαιτα παροχής τροφής και νερού ξεχωριστά “YS+H₂O”, δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με αυτών που είχαν πρόσβαση στη δίαιτα “YSAgar”, όπου η παροχή νερού και τροφής πραγματοποιούνταν υπό μορφή γέλης ($\chi^2 = 0,42$, $df = 1$, $P = 0,515$). Ο υψηλότερος μέσος όρος επιβίωσης ($40,69 \pm 1,03$) παρατηρήθηκε στα ενήλικα της μεταχείρισης “YSAgar” και ο χαμηλότερος ($2,94 \pm 0,05$) σε εκείνα της μεταχείρισης “blank” (Πίνακας 3.1).

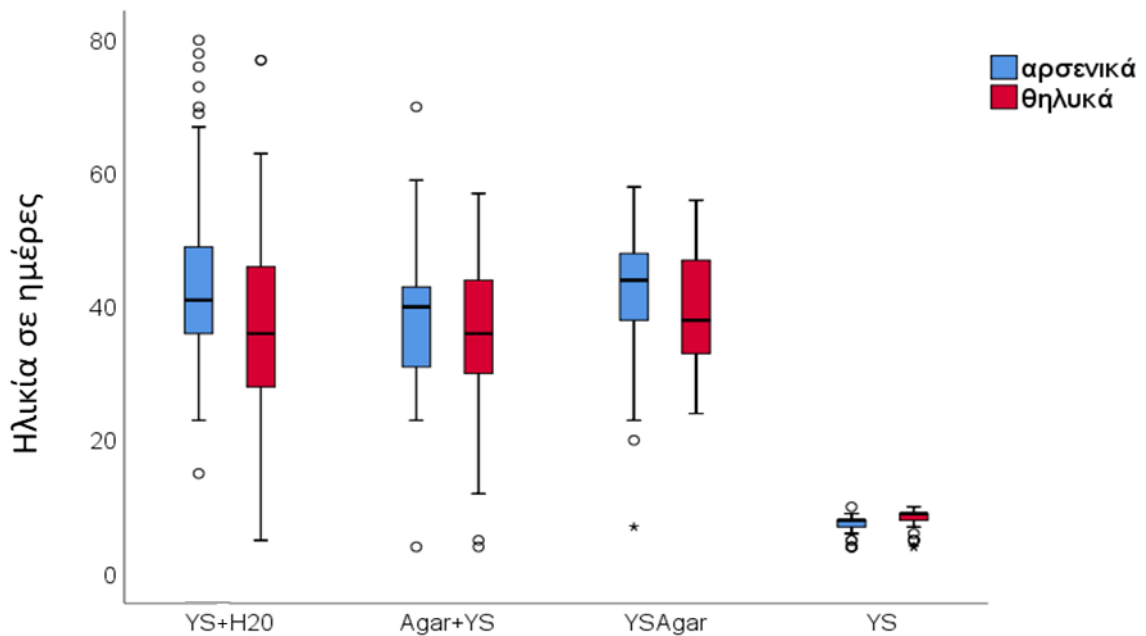
Τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη και ζάχαρη αλλά όχι σε νερό (μεταχείριση “YS”) επιβίωσαν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα σε σύγκριση με αυτά που είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό και όχι σε τροφή (μεταχειρίσεις “H₂O”, “Agar”, “blank”) ($\chi^2_{H_2O} = 203,88$, $\chi^2_{Agar} = 200,79$, $\chi^2_{blank} = 202,96$, $df = 1$, $P < 0,001$). Οι ανά δύο συγκρίσεις των μεταχειρίσεων παροχής νερού δεν κατέδειξαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις δύο μεταχειρίσεις, κατά τα οποία το νερό παρεχόταν στα ενήλικα είτε μέσω φιαλιδίου (μεταχείριση “H₂O”) είτε σε μορφή γέλης (νερό με άγαρ, μεταχείριση “Agar”) ($\chi^2 = 0$, $df = 1$, $P = 0,998$). Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των ενηλίκων που διατηρούνταν χωρίς πρόσβαση σε νερό και τροφή (blank) και των ενηλίκων των δύο παραπάνω μεταχειρίσεων ($\chi^2_{H_2O} = 0,68$, $df = 1$, $P = 0,411$ και $\chi^2_{Agar} = 0,6$, $df = 1$, $P = 0,411$) (Διάγραμμα 3.1, 3.3) (Πίνακας 3.1).

Πίνακας 3.1: Μέση διάρκεια ζωής και τεταρτημόρια (quartiles) ενηλίκων, κατά την διάρκεια διατήρησής τους στις 7 μεταχειρίσεις.

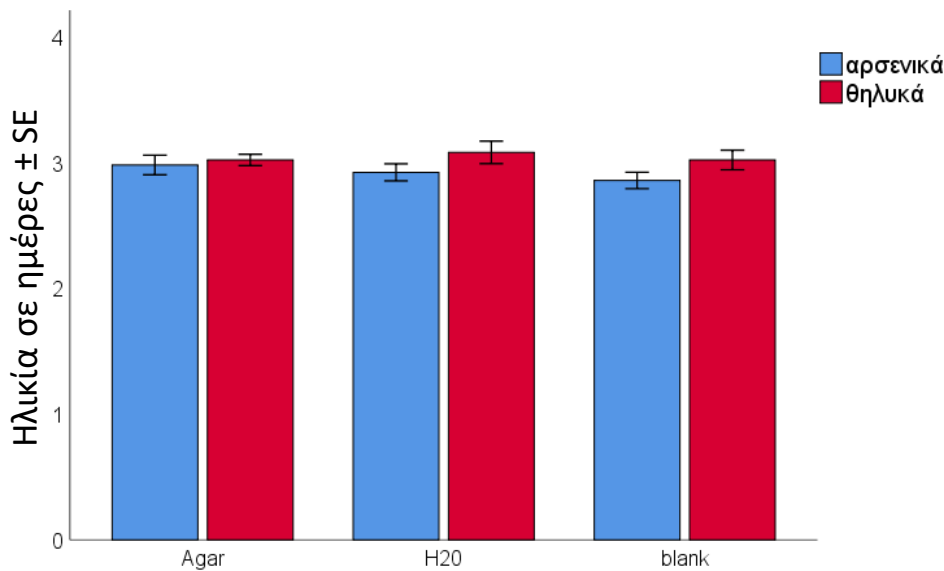
Μεταχείριση	Διάρκεια ζωής (ημέρες) ± SE			
	Μέση	Τεταρτημόρια		
		25	50	75
YS+H ₂ O	40,12 ± 1,59	46 ± 1,18	40 ± 1,25	29 ± 2,19
Agar	3,0 ± 0,04	-	-	-
H ₂ O	3,0 ± 0,06	-	-	-
Agar+YS	37,26 ± 1,15	44 ± 1,27	37 ± 1,82	30 ± 1,46
YSAgar	40,69 ± 1,03	47 ± 0,83	41 ± 1,32	35 ± 2,42
blank	2,94 ± 0,05	-	-	-
YS	7,82 ± 0,16	9 ± 0,14	8 ± 0,16	7 ± 0,29



Διάγραμμα 3.1: Καμπύλες επιβίωσης ενήλικων σε σχέση με την διαφορετική μεταχείριση της τροφής. Σε κάθε μεταχείριση χρησιμοποιήθηκαν 100 ενήλικα (50 θηλυκά και 50 αρσενικά).



Διάγραμμα 3.2: Θηκόγραμμα της διάρκειας ζωής αρσενικών (μπλε χρώμα) και θηλυκών (κόκκινο χρώμα) που διατηρούνταν σε τέσσερις μεταχειρίσεις που περιείχαν ζάχαρη, πρωτεΐνη, και διαφοροποιούνταν ο τρόπος παροχής του νερού.



Διάγραμμα 3.3: Διάρκεια ζωής αρσενικών (μπλε χρώμα) και θηλυκών (κόκκινο χρώμα) που είχαν πρόσβαση σε νερό με άγαρ (“Agar”), μόνο σε νερό (“H₂O”) και που δεν είχαν πρόσβαση σε τροφή και νερό “blank”.

3.5. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν πως η πρόσβαση σε τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, σε σύγκριση με την πρόσβαση μόνο σε νερό, επιδρά καθοριστικά στην επιβίωση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου. Τα ενήλικα που είχαν πρόσβαση μόνο σε νερό (“H₂O”) ή σε νερό και άγαρ (“Agar”), παρουσίασαν παραπλήσια διάρκεια ζωής με αυτά στα οποία δεν παρέχονταν ούτε νερό ούτε τροφή (“blank”). Αντίθετα, αυτά που τράφηκαν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (“YS”) χωρίς την παροχή νερού εμφάνισαν διπλάσια διάρκεια ζωής. Σε πειράματα των Fanson et al. (2012), μελετήθηκε η προτίμηση των ενηλίκων ανάμεσα στο νερό και την τροφή, που αποτελούνταν από ζάχαρη και πρωτεΐνη. Αποδείχθηκε πως τα ενήλικα είχαν ως πρώτη προτεραιότητα την κατανάλωση της τροφής, καθώς προτιμούσαν τα μακροθρεπτικά στοιχεία σε σύγκριση με το νερό. Η σημαντική επίδραση της τροφής με ζάχαρη και πρωτεΐνη, στην επιβίωση των εντόμων, σε περιβάλλοντα έλλειψης νερού, είναι γνωστή σε άλλα είδη Διπτέρων. Μελέτες στο είδος *D. melanogaster*, αποδεικνύουν την ικανότητα των ενηλίκων να επιβιώνουν σε συνθήκες έλλειψης νερού, μεγιστοποιώντας την πρόσληψή του, από την τροφή (Fanson et al., 2012; Gibbs and Matzkin 2001; Waterson et al., 2014). Πιο συγκεκριμένα, οι Waterson et al. (2014), αναφέρουν πως η

τεχνητή απενεργοποίηση των αισθητήριων νευρώνων *ppk28*, που αντιλαμβάνονται την γεύση του νερού, επέδρασε σημαντικά στην αύξηση της επιβίωσης. Ο φυσιολογικός περιορισμός του νερού, σε βαθμό που προκαλεί μείωση της διέγερσης των αισθητήριων οργάνων ανίχνευσής του, προκαλεί την ενεργοποίηση μιας βιώσιμης στρατηγικής που ακολουθεί το έντομο, με στόχο την ενίσχυση της φυσιολογικής του κατάστασης. Τα αποτελέσματά της μελέτης, έδειξαν ότι σε συνθήκες έλλειψης διαθέσιμου νερού, προκαλείται μεταβολική μετατόπιση και προωθείται η εξασφάλιση ποσοτήτων νερού, από τον μεταβολισμό της τροφής, με αποτέλεσμα η επιβίωση να επεκτείνεται. Οι Gibbs and Matzkin (2001), επισημαίνουν πως η προαναφερθείσα αντίδραση λειτουργεί στα έντομα που προέρχονται από ξηροθερμικές περιοχές. Οι πληθυσμοί αυτοί καθίστανται ανθεκτικότεροι σε συνθήκες έλλειψης νερού, καθώς είναι περισσότερο προσαρμοσμένοι σε ξηρά περιβάλλοντα.

Στο παρόν Κεφάλαιο δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των δύο φύλων. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου είναι μακροβιότερα σε σχέση με τα θηλυκά, με το κόστος αναπαραγωγής να επιδρά σημαντικότερα στα θηλυκά (βλ.Κεφ. 1.2.5). Σε μελέτη της Παπαναστασίου (2014), αναφέρεται η υψηλότερη ημερήσια δραστηριότητα των αρσενικών σε σύγκριση με τα θηλυκά, χωρίς όμως στα θηλυκά να παρέχεται υπόστρωμα ωτοκίας, όπως και στο πείραμα του συγκεκριμένου κεφαλαίου. Ακόμη, τα θηλυκά που γεννούσαν σε υπόστρωμα ωτοκίας με χυμό πορτοκαλιού, πραγματοποιούσαν περισσότερες προσπάθειες και είχαν υψηλότερο μέσο όρο ημερήσιας ωτοκίας σε πειράματα του Ιωάννου (2005). Τα ίδια άτομα, παρουσίαζαν μικρότερη μετααναπαραγωγική διάρκεια ζωής καθώς οι προσπάθειες ωτοκίας καθόριζαν την επιβίωσή τους. Οι ευκαιρίες ωτοκίας των θηλυκών καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τις επιπτώσεις του διατροφικού περιορισμού στην επιβίωση (Carey et al., 2002a). Τα θηλυκά πιθανόν να εμφάνισαν παρόμοιο προσδόκιμο ζωής με τα αρσενικά στην παρούσα διατριβή, καθώς δεν πραγματοποιούσαν προσπάθειες ωτοκίας ή δεν είχαν επιτυχημένες ωτοκίες με αποτέλεσμα να επενδύουν την ενέργειά τους στην επιβίωση και σε άλλες δραστηριότητες. Η δίαιτα που περιέχει πρωτεΐνη επίσης ενδέχεται να αυξήσει την επιβίωση των θηλυκών και σε κάποιες περιπτώσεις να εμφανίσουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με τα αρσενικά (Muller et al., 1997; Placido-Silva et al., 2006). Η ύπαρξη πρωτεΐνης στην τροφή των θηλυκών είναι αναγκαία ώστε να επιτυγχάνεται η ωτοκία (Davies et al., 2005), εφόσον όμως το υπόστρωμα ωτοκίας λείπει τότε η πρωτεΐνη ενδέχεται να επενδύεται στην ανάγκη της επιβίωσης.

Το άγαρ φέρει εξαιρετικές ιδιότητες κατακράτησης υψηλών ποσοτήτων νερού στο εσωτερικό της γέλης. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των πολυσακχαριτών είναι ισχυροί παγιδεύοντας τα μόρια του νερού. Συνεπώς, φαίνεται ότι τα έντομα μέσω της τροφής προσλαμβάνουν και υψηλές ποσότητες μορίων νερού που συντελούν στην αύξηση της επιβίωσης

τους. Οι Fanson et al. (2012), διερεύνησαν την ξεχωριστή επίδραση της κατανάλωσης ζάχαρης και πρωτεΐνης στη μετέπειτα κατανάλωση νερού από τα ενήλικα του *D. melanogaster*. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η κατανάλωση πρωτεΐνης προκαλεί αύξηση της κατανάλωσης νερού, ενώ η κατανάλωση ζάχαρης δεν επηρεάζει τα επίπεδα πρόσληψης νερού από το έντομο. Η ζάχαρη διασπάται σε γλυκόζη και φρουκτόζη, μόρια τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως πηγές νερού κατά το μεταβολισμό του εντόμου, καθώς ένα μόριο αυτών αντιστοιχεί σε έξι μόρια νερού (Fanson et al., 2012). Η κατανάλωση σακχάρων και νερού από το έντομο με αυτόν τον τρόπο οδηγεί σε σταδιακή προσαρμογή του στις συνθήκες έλλειψης νερού που δημιουργούνται κατά την κατανάλωση και αφυδάτωση της γέλης, με αποτέλεσμα να γίνεται ανθεκτικότερο σε συνθήκες έλλειψης νερού. Πιθανώς η υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων που υπήρχε στη γέλη των τροφών στις μεταχειρίσεις του παρόντος κεφαλαίου, εξασφάλιζε την πρόσληψη νερού μέσω του μεταβολισμού τους επεκτείνοντας το προσδόκιμο ζωής τους. Παρά το γεγονός ότι οι συγκεντρώσεις των συστατικών στην δίαιτα των Niyazi et al. (2004) για τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου, διέφεραν σε σύγκριση με τη συνταγή που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα διατριβή, φαίνεται ότι η παροχή τροφής και νερού από κοινή γέλη με βάση το άγαρ, αυξάνει σημαντικά την επιβίωση των ενηλίκων, με τις ανάγκες του εντόμου σε θρεπτικά συστατικά και νερό να καλύπτονται πλήρως.

Κεφάλαιο 4. Μελέτη της δημογραφίας ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που διατηρούνταν σε συμβατικούς γυάλινους σωλήνες και σε ατομικά κλουβιά δημογραφίας

4.1. Εισαγωγή

Ο διαθέσιμος χώρος μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τις παραμέτρους της ζωής των ενηλίκων εντόμων σε εργαστηριακές συνθήκες και να αποτελέσει ένα σημαντικό παράγοντα παραλλακτικότητας. Η επίδραση του «χώρου» είναι συνήθως εντονότερη όταν τα έντομα διατηρούνται σε ομάδες καθώς συχνά οδηγεί σε φαινόμενα συνωστισμού που επάγουν σημαντικά επίπεδα καταπόνησης. Η επίδραση του χωρικού περιορισμού στην επιβίωση και τη δραστηριότητα των ενηλίκων έχει μελετηθεί για διάφορα είδη Διπτέρων. Για παράδειγμα, οι Ragland and Solah, 1973 και οι Sohal and Runnels, 1986, παρατήρησαν ότι τα μακροβιότερα άτομα της οικιακής μύγας *Musca domestica* ήταν λιγότερο δραστήρια κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής τους. Η μείωση της δραστηριότητας προκαλούταν με τον περιορισμό της ικανότητας πραγματοποίησης πτήσεων, μέσω της μείωσης του διαθέσιμου χώρου, κατά τη διατήρησή τους στα κλουβιά (Sohal and Runnels, 1986; Sohal and Donato, 1978). Οι μακροβιότεροι πληθυσμοί του *D. melanogaster* ήταν λιγότερο δραστήριοι στη μελέτη των Fernández et al., 1999. Σε αντίθεση με τις παραπάνω έρευνες, ο Le Bourg, 1987 και 1984, ανέφερε θετική συσχέτιση της δραστηριότητας με τη διάρκεια ζωής. Η απώλεια της ικανότητας πτήσης, που προηγείται του θανάτου, επέρχεται γρηγορότερα στα περισσότερα δραστήρια άτομα σε σύγκριση με τα άτομα που πραγματοποιούν χαμηλότερη δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της ζωής τους σύμφωνα με τους Ragland and Solah (1973).

Η διατήρηση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σε εργαστηριακές συνθήκες πραγματοποιείται σε διάφορα είδη κλουβιών που ποικίλουν σε μέγεθος. Το ξύλινο κλουβί διαστάσεων 30x 30x 30 cm (Εικ. 2.3), χρησιμοποιείται συνήθως για τη διατήρηση των ενηλίκων στις εκτροφές μικρής κλίμακας. Εντός του ξύλινου κλουβιού τοποθετούνται το τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας, η τροφή σε πλαστικό συνήθως τριβλίο petri και το νερό σε φιαλίδιο με φυτίλι (Εικ. 2.2) (Diamantidis et al., 2008; Papadopoulos et al., 1998). Κατ' αντιστοιχία, σε πειράματα που περιλαμβάνουν παρατήρηση μεγάλου αριθμού ατόμων, τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου διατηρούνται ομαδικά σε διαφόρων διαστάσεων και τύπων κλουβιά, είτε από Plexiglas, είτε από πλαστικό και αλουμίνιο (Carey et al., 2002; 1999), ενώ για ατομικές παρατηρήσεις ή για παρατήρηση μικρού αριθμού ατόμων τα ενήλικα διατηρούνται σε ατομικά κλουβιά μεμονωμένα ή σε ζεύγη (Carey et al., 1998; Koulioussis et al., 2017). Τόσο το μέγεθος του ατομικού κλουβιού όσο και το υπόστρωμα ωτοκίας μπορεί να επηρεάσουν τα δημογραφικά χαρακτηριστικά

των ενηλίκων. Ο μικρότερος χώρος προφανώς, μειώνει τις δαπανηρές δραστηριότητες όπως είναι η πτήση και αναμένεται αυτό να συνδέεται με μεγαλύτερη διάρκεια επιβίωσης. Από την άλλη, υπερβολική μείωση του διαθέσιμου χώρου μπορεί να επάγει την καταπόνηση και τους τραυματισμούς κατά την προσπάθεια πραγματοποίησης πτήσης και έτσι η διάρκεια ζωής να μειώνεται (Koneos et al., 1997).

Η χρησιμοποίηση ηλεκτρονικών συστημάτων καταγραφής της συμπεριφοράς των εντόμων συχνά απαιτεί τη χρήση συγκεκριμένων γυάλινων σωλήνων οι οποίοι μπορεί να δημιουργούν συνθήκες καταπόνησης για τα εγκλωβισμένα ενήλικα (πχ. σύστημα Trikinetics). Σε περίπτωση που οι παρατηρήσεις διαρκούν λίγες ημέρες η πιθανή καταπόνηση μπορεί να μην είναι εμφανείς σε τέτοιου είδους συνθήκες διατήρησης των εντόμων. Όμως σε μελέτες που αφορούν σε όλη τη διάρκεια της ζωής των ενηλίκων τέτοιες καταπονήσεις μπορεί να επηρεάσουν δραματικά τη διάρκεια ζωής την ωτοκία και άλλες βιολογικές παραμέτρους.

Πριν τη χρήση και υιοθέτηση του συστήματος καταγραφής συμπεριφοράς LAM25system (Trikinetics) για μελέτες που αφορούν στην καταγραφή της δραστηριότητας ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σ' όλη τη διάρκεια της ζωής, είναι απαραίτητο να αξιολογηθεί εάν οι σωλήνες διατήρησης των εντόμων δημιουργούν συνθήκες καταπόνησης στα ενήλικα.

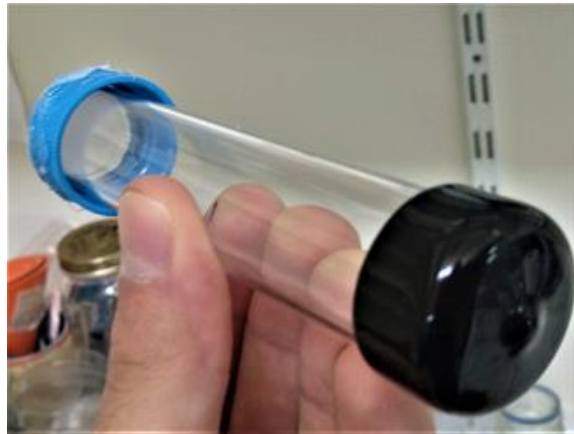
Σκοπός του παρόντος Κεφαλαίου ήταν η μελέτη των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που διατηρούνταν στους δύο προαναφερθέντες τύπους κλουβιών και τρέφονταν σε δύο τροφές που περιείχαν ζάχαρη, πρωτεΐνη και η παροχή νερού πραγματοποιούνταν μέσω γέλης ή φυτιλιού.

4.2. Υλικά και μέθοδοι

4.2.1. Προσαρμογή γυάλινων σωλήνων του συστήματος LAM25system, Trikinetics για τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου

Οι γυάλινοι σωλήνες (tubes) που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κυλινδρικοί, ανοιχτοί και από τις δύο πλευρές, τύπου PGT25×125- Pyrex Glass Tube, διαμέτρου 25 mm και μήκους 125 mm (LAM25system, Trikinetics) (Εικ. 4.1). Κάθε γυάλινος σωλήνας έφερε στη μία άκρη πλαστικό πώμα διαμέτρου 3 cm, στο οποίο με τη βοήθεια νυστεριού είχε δημιουργηθεί οπή που καλυπτόταν με οργαντίνα λεπτής διατομής (Economidou et. al, 1989) (Εικ. 4.2). Το πώμα με την οργαντίνα συντελούσε στον αερισμό του σωλήνα και επιπλέον αποτελούσε σημείο εναπόθεσης των αυγών για τα θηλυκά. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εναπόθεση αυγών στο υπόστρωμα ήταν η προσαρμογή

της οργανίνας στο πώμα έτσι ώστε να είναι πλήρως τεντωμένη (Econoποπουλος et. al, 1989). Η άλλη άκρη του σωλήνα καλυπτόταν με πώμα βινυλίου μαύρου χρώματος τύπου CAP25-BLK- Vinyl Tube Cap, διαμέτρου 25 mm και μήκους 12 mm (LAMsystem, Trikinetics). Το πώμα βινυλίου έφερε εσωτερικά 3 ml τροφής “YSAgar” (βλ. Κεφ. 2,3) και αντικαθίστατο με νέα γέλη κάθε 4 μέρες (Εικ. 4.3).



Εικόνα 4.1: Γυάλινος κυλινδρικός σωλήνας PGT25×125- Pyrex Glass Tube, στον οποίο διατηρούνταν ατομικά τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου.



Εικόνα 4.2: Πλαστικό πώμα προσαρμοσμένο στη μία άκρη του κυλινδρικού σωλήνα. Το πώμα έφερε κομμάτι οργανίνας μικρής διατομής που επέτρεπε τον αερισμό του σωλήνα και χρησίμευε ως υπόστρωμα ωοτοκίας για τα θηλυκά.



Εικόνα 4.3: Πώμα βινυλίου CAP25-BLK- Vinyl Tube Cap, που προσαρμοζόταν στον γυάλινο κυλινδρικό σωλήνα διατήρησης ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και έφερε τροφή τύπου “YSAgar”.

Οι σωλήνες τοποθετούνταν σε χάρτινα ικριώματα, ανά δέκα σε πλαστικούς δίσκους (Εικ. 4.4). Κάτω από το υπόστρωμα ωοτοκίας (πώμα με οργαντίνη) των θηλυκών προσαρμοζόταν κομμάτι μαύρου διηθητικού χαρτιού ή υφασμάτινης επιφάνειας, όπου συλλέγονταν και καταμετρούνταν τα αυγά (Εικ. 4.5).



Εικόνα 4.4: Γυάλινοι κυλινδρικούς σωλήνες τοποθετημένοι πάνω σε χάρτινο ικριώμα. Οι σωλήνες χρησιμοποιήθηκαν για τη διατήρηση ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σε πειράματα μελέτης της δημογραφίας.



Εικόνα 4.5: Αυγά ημέρας πάνω σε μαύρο διηθητικό χαρτί. Τα θηλυκά ωτοκοούσαν διαπερνώντας με τον ωσθέτη την οργαντίνα μικρής διατομής που βρισκόταν προσαρμοσμένη στη μία άκρη του γυάλινου σωλήνα διατήρησης των ενηλίκων. Τα αυγά έπεφταν στο μαύρο διηθητικό χαρτί που βρισκόταν τοποθετημένο στο ίδιο ύψος με το πώμα οργαντίνας και συλλέγονταν με τη βοήθεια πινέλου.

4.2.2. Πλαστικά ατομικά κλουβιά

Το κάθε κλουβί αποτελούταν από ένα πλαστικό, διάφανο ποτήρι χωρητικότητας 400 ml, το οποίο πλευρικά έφερε άνοιγμα επικαλυμμένο με οργαντίνα μικρής διατομής, ώστε να επιτυγχάνεται επαρκής αερισμός στο εσωτερικό του. Στο άνω χείλος του ποτηριού υπήρχε, προσαρμοσμένο με χαρτοταινία, το καπάκι πλαστικού τριβλίου petri διαμέτρου 9 cm το οποίο έφερε μία οπή και τοποθετούταν στη βάση του, η οποία ήταν γεμάτη με νερό και αποτελούσε τη βάση στήριξης του κλουβιού (Εικ. 4.6.). Στην οπή του πρώτου τριβλίου τοποθετούταν τμήμα φυτιλιού μήκους 3 cm και πλάτους 1 cm, ώστε να έρχεται σε επαφή με το νερό της βάσης και να το παρέχει στο έντομο εντός του κλουβιού. Στην άνω επιφάνεια του κλουβιού, υπήρχε οπή διαμέτρου 1,5 cm, που αποτελούσε το σημείο εισόδου του εντόμου στο κλουβί και καλύπτονταν από φελλό ή βαμβάκι. Η τροφή (ζάχαρη και υδρολυμένη μαγιά σε αναλογία 4:1- “YS”) τοποθετούταν στην οργαντίνα πλευρικά του κλουβιού σε μορφή σταγόνων. Η βάση των ατομικών κλουβιών που προορίζονταν για τη διατήρηση των θηλυκών έφερε προσαρμοσμένο τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (βλ. Κεφάλαιο 2.2).



Εικόνα 4.6.: Ατομικά κλουβιά δημογραφίας για τη διατήρηση αρσενικών (αριστερά) και θηλυκών (δεξιά) της μύγας της Μεσογείου. Στα κλουβιά των θηλυκών διακρίνεται το κόκκινο τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας που προσομοιάζει σε καρπό.

4.2.3. Πειραματική διαδικασία

Στο παρών Κεφάλαιο πραγματοποιήθηκε σύγκριση των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ενηλίκων ανάμεσα στους δύο τύπους ατομικών κλουβιών. Αμέσως μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, 20 αρσενικά και 20 θηλυκά τοποθετήθηκαν ατομικά σε κάθε γυάλινο σωλήνα και πλαστικό κλουβί. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 40 θηλυκά και 40 αρσενικά. Ο αριθμός των νεκρών ενηλίκων και ο αριθμός των αυγών που τα θηλυκά εναπόθεταν στην οργαντίνα ή το τεχνητό υπόστρωμα καταμετρούνταν καθημερινά. Ο θάνατος των ενηλίκων και η ωοπαραγωγή των θηλυκών καταγράφονταν ημερησίως. Οι μετρήσεις που παρουσιάζονται αφορούν μέχρι και την 85^η ημέρα ζωής αρσενικών και θηλυκών.

4.4. Στατιστική ανάλυση

Οι συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των ενηλίκων και των δύο φύλων στις μεταχειρίσεις των διαφορετικών τύπων κλουβιών ελέγχθηκαν με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model). Οι ανά δύο συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση Kaplan- Meier (KM) και ο έλεγχος σημαντικότητας έγινε με το κριτήριο Log Rank Mantel-Cox.

Οι συγκρίσεις της ωοπαραγωγής μεταξύ των θηλυκών των δύο μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση των γενικευμένων

γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models- GLM) με κατανομή Poisson και συνάρτηση σύνδεσης log. Οι περίοδοι προωτοκίας, ωτοκίας και μεταωτοκίας συγκρίθηκαν με το μοντέλο των αναλόγων κινδύνων του Cox.

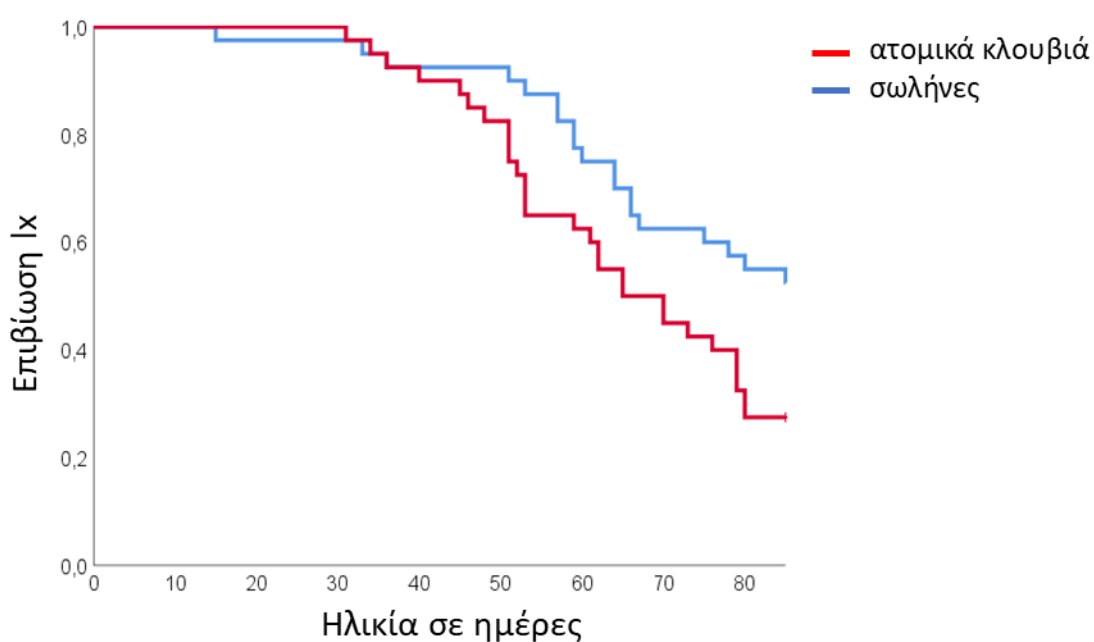
4.5. Αποτελέσματα

Η διάρκεια ζωής των ενηλίκων ήταν μακρύτερη στους γυάλινους σωλήνες σε σχέση με τα ατομικά κλουβιά, ανεξάρτητα από το φύλο (Cox regression, Wald $\chi^2 = 4,95$, $df = 1$, $P < 0,05$) (Διάγραμμα 4,1) (Πίνακας 4.1). Τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών, ανεξάρτητα από το κλουβί διατήρησής τους (Wald $\chi^2 = 29,37$, $df = 1$, $P < 0,001$). Το μοτίβο της επιβίωσης μεταξύ των δύο φύλων στους γυάλινους σωλήνες και στα ατομικά κλουβιά, διέφερε σημαντικά (Wald $\chi^2 = 3,92$, $df = 1$, $P < 0,05$). Όταν η επιβίωση αρσενικών και θηλυκών εξετάστηκε για κάθε μέσο διατήρησης των εντόμων ξεχωριστά, το μοντέλο αναλόγων κινδύνων του Cox προέβλεψε ότι τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα από τα θηλυκά όταν διατηρούνταν τόσο σε γυάλινους σωλήνες όσο και σε ατομικά κλουβιά δημογραφίας (Wald $\chi^2_{\text{σωλήνες}} = 12,30$, Wald $\chi^2_{\text{κλουβιά}} = 18,32$, $df = 1$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 4.2).

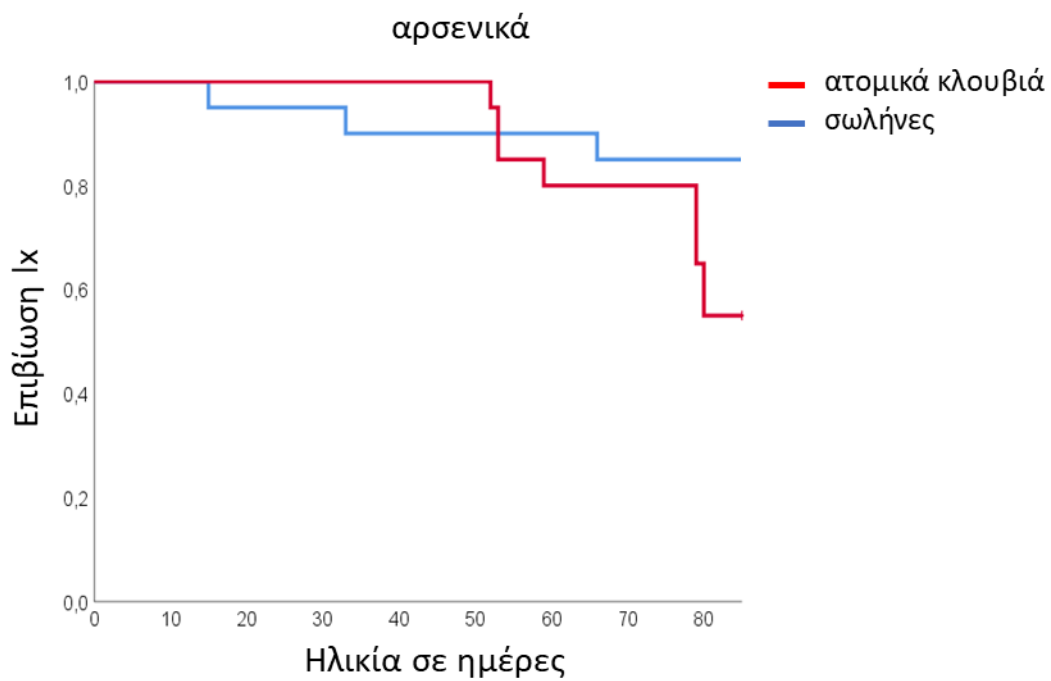
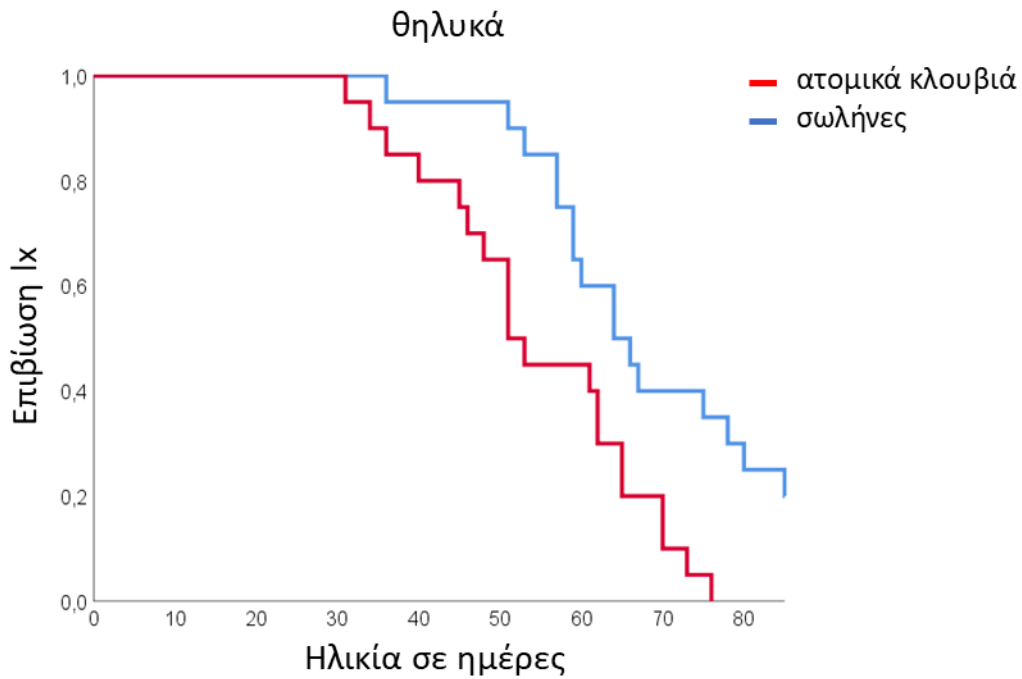
Τα θηλυκά στους σωλήνες επιβίωναν σε μεγαλύτερο ποσοστό έως την 85^η ημέρα σε σύγκριση με τα θηλυκά στα ατομικά κλουβιά (Wald $\chi^2 = 7,47$, $df = 1$, $P < 0,05$) (Πίνακας 4.1, Διάγραμμα 4.1). Το 75% των θηλυκών στους σωλήνες επιβίωσε μέχρι την 57^η ημέρα, ενώ στα ατομικά κλουβιά μέχρι την 45^η. Το 50% της θνησιμότητας, στους σωλήνες σημειώθηκε την 64^η ημέρα ενώ στα ατομικά κλουβιά την 51^η ημέρα. Τέλος, το 25% των θηλυκών στους σωλήνες επιβίωσε μέχρι την 80^η ημέρα, ενώ στα ατομικά κλουβιά μέχρι την 65^η ημέρα. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των αρσενικών που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες και σε ατομικά κλουβιά (Wald $\chi^2 = 2,99$, $df = 1$, $P = 0,084$) (Διάγραμμα 4.1). Η μέση επιβίωση του 25, 50 και 75% των αρσενικών δεν ήταν δυνατόν να υπολογιστεί για τα αρσενικά που διατηρούνταν σε σωλήνες καθώς έως την 85^η ημέρα είχε πεθάνει το 15% των αρσενικών. Η μέση επιβίωση του 75% των αρσενικών που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά ήταν 79 ημέρες. Μέχρι την ηλικία των 85 ημερών είχε πεθάνει το 45% των αρσενικών που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά (Πίνακας 4.1).

Πίνακας 4.1: Μέση διάρκεια ζωής και τεταρτημόρια (quartiles) ενηλίκων, κατά την διάρκεια διατήρησής τους στα πλαστικά κλουβιά και τους γυάλινους σωλήνες.

Μεταχείριση	φύλο	Διάρκεια ζωής (ημέρες) \pm SE			
		Μέση	Τεταρτημόρια		
			25	50	75
σωλήνες	αρσενικά	159,55 \pm 11,56	-	-	-
	θηλυκά	72,15 \pm 4,74	80 \pm 6,79	64 \pm 4,47	57 \pm 2,91
ατομικά κλουβιά	αρσενικά	77,45 \pm 2,66	-	-	79 \pm 14,22
	θηλυκά	54,5 \pm 3	65 \pm 2,68	51 \pm 2,8	45 \pm 5,81



Διάγραμμα 4.1: Καμπύλες επιβίωσης ενηλίκων (αρσενικά και θηλυκά) που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά (κόκκινο χρώμα) και σε γυάλινους σωλήνες (μπλε χρώμα). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν έως την ηλικία των 85 ημερών για τα 20 αρσενικά και 20 θηλυκά που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε τύπο κλουβιού.



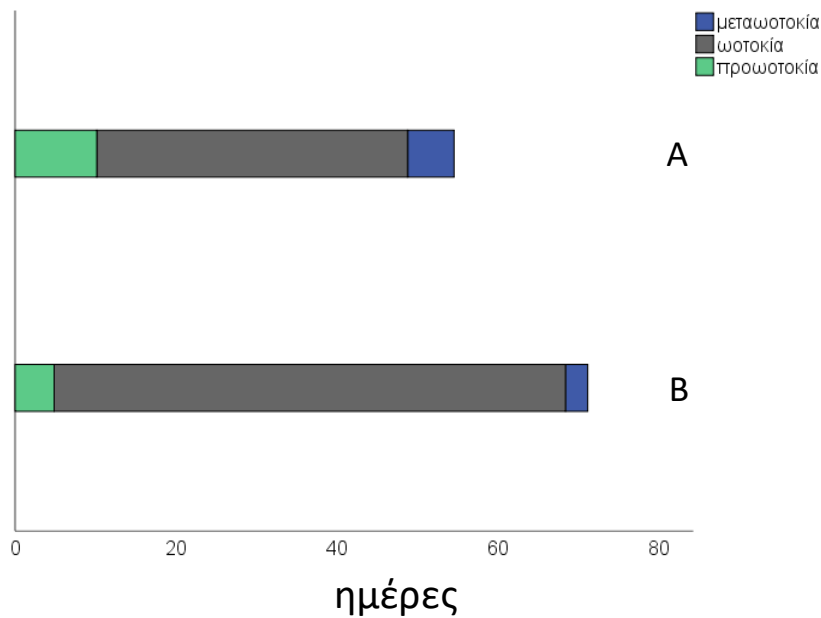
Διάγραμμα 4.2: Καμπύλες επιβίωσης θηλυκών (επάνω) και αρσενικών (κάτω) που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά (κόκκινο χρώμα) και σε γυάλινους σωλήνες (μπλε χρώμα). Οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν έως την ηλικία των 85 ημερών.

Στον Πίνακα 4.2 δίνεται η μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών των δύο μεταχειρίσεων, για όλη τη διάρκεια της ζωής τους, καθώς και οι περίοδοι πρωτοκίας, ωτοκίας και μετά την ωτοκία. Τα θηλυκά που διατηρούνταν στους γυάλινους σωλήνες ωτόκησαν συνολικά μεγαλύτερο αριθμό αυγών σε σχέση με τα θηλυκά που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά (Wald $\chi^2 = 1144,96$ df = 1, $P < 0,001$). Επίσης, τα θηλυκά που διατηρούνταν στους σωλήνες παρουσίασαν μικρότερη περίοδο πρωτοκίας (Wald $\chi^2 = 10,91$, df = 1, $P < 0,001$), και μεγαλύτερη περίοδο ωτοκίας (Wald $\chi^2 = 8,17$, df = 1, $P < 0,05$), σε σχέση με τα θηλυκά που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην περίοδο μεταωτοκίας μεταξύ των θηλυκών των δύο μεταχειρίσεων (Wald $\chi^2 = 1,13$, df = 1, $P = 0,29$) (Διάγραμμα 4.3).

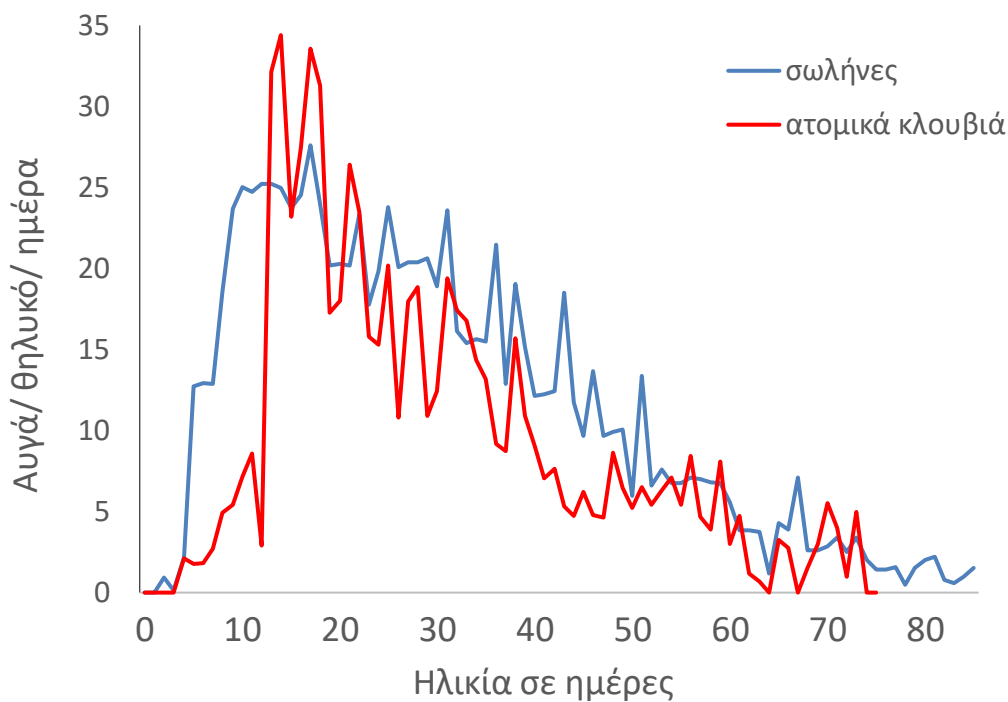
Η μέση ημερήσια ωτοκία ξεπέρασε τα 20 αυγά ανά θηλυκό ανά ημέρα στο πρώτο δεκαήμερο ζωής όταν διατηρούνταν σε σωλήνες (Διάγραμμα 4.4). Τα θηλυκά που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά ωτοκούσαν σχετικά μικρό αριθμό αυγών το πρώτο δεκαήμερο της ζωής τους, αλλά στη συνέχεια ο ημερήσιος ρυθμός ωοπαραγωγής αυξήθηκε απότομα και ξεπέρασε τα 25 αυγά ανά θηλυκό ανά ημέρα μετά την ηλικία των 15 ημερών. Ο μέγιστος αριθμός παραγωγής αυγών (27,45 αυγά) ανά θηλυκό καταγράφηκε τη 16^η ημέρα στα θηλυκά που διατηρούνταν σε σωλήνες και τη 13^η ημέρα (34,4 αυγά ανά θηλυκό) στα θηλυκά που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά. Ο ρυθμός της μέσης ημερήσιας ωτοκίας άρχισε να μειώνεται μετά την ηλικία των 35 ημερών και για τις δύο μεταχειρίσεις.

Πίνακας 4.2: Μέσος όρος ωοπαραγωγής και περίοδοι πρωτοκίας, ωτοκίας και μετά την ωτοκία για τα θηλυκά που διατηρήθηκαν σε σωλήνες και ατομικά κλουβιά.

Τύπος κλουβιών	Αυγά/θηλυκό \pm SE	Μέσοι όροι περιόδων αναπαραγωγής σε ημέρες \pm SE		
		Πρωτοκία	Ωτοκία	Μετά την ωτοκία
σωλήνες	946,13 \pm 70,97 α	5,24 \pm 0,6 α	64,87 \pm 4,86 α	3,31 \pm 0,77 α
πλαστικά κλουβιά	624,7 \pm 55,57 β	10,15 \pm 0,84 β	38,6 \pm 3,17 β	5,75 \pm 2,3 α



Διάγραμμα 4.3: Διάρκεια περιόδων προωτοκίας, ωτοκίας και μετά την ωτοκία σε ημέρες, για τα θηλυκά που διατηρήθηκαν σε ατομικά κλουβιά (A) και σωλήνες (B). Με πράσινο χρώμα δίνεται η περίοδος προωτοκίας, με μαύρο χρώμα η περίοδος ωτοκίας και με μπλε χρώμα η περίοδος μετά την ωτοκία.



Διάγραμμα 4.4: Ωοπαραγωγή σε σχέση με την ηλικία, για τα θηλυκά που διατηρήθηκαν σε σωλήνες (μπλε χρώμα) και ατομικά κλουβιά (κόκκινο χρώμα), μέχρι την 85^η ημέρα ζωής τους.

4.6. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το είδος του κλουβιού επηρέασε σημαντικά την διάρκεια ζωής των ενηλίκων. Επίσης, τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών και στις δύο μεταχειρίσεις, επιβεβαιώνοντας τα αποτελέσματα προηγούμενων μελετών (Carey, 2002b; 1984; 2011; Papadopoulos, 2002; Diamantidis et al. 2009; Muller et al., 1997; Placido-Silva et al., 2006). Το είδος του κλουβιού είχε σημαντική επίδραση στη διάρκεια ζωής των θηλυκών όχι όμως και των αρσενικών όταν αυτά συγκρίθηκαν ανεξάρτητα. Επίσης, το κλουβί επηρέασε σημαντικά και την ωοπαραγωγή των θηλυκών. Τα θηλυκά που διατηρούνταν στους γυάλινους σωλήνες ήταν μακροβιότερα από αυτά που διατηρούνταν στα ατομικά κλουβιά δημογραφίας. Στο ατομικό κλουβί το έντομο έχει περισσότερο χώρο ώστε να πετάει και να κινείται σε σύγκριση με τον γυάλινο σωλήνα. Οι Fanson et al. (2012) υπέθεσαν ότι, η μείωση του διαθέσιμου χώρου δραστηριοποίησης στα ενήλικα της *D. melanogaster*, οδηγεί στην μειωμένη εκδήλωση πτήσης με την αύξηση της ηλικίας (Fanson et al., 2012; Lehmann et al., 2000). Το έντομο στον μικρό διαθέσιμο χώρο εκφράζει περισσότερο συμπεριφορές ξεκούρασης και βάδισης, που δεν απαιτούν μεγάλα ποσοστά ενέργειας. Πιθανότατα, σε αυτές τις συνθήκες, τα υψηλότερα ποσοστά ενέργειάς του εντόμου να επενδύονται στην επιβίωση και στην σεξουαλική συμπεριφορά για τα αρσενικά και στην ωοπαραγωγή για τα θηλυκά.

Σε προηγούμενες μελέτες έχουν καταγραφεί, οι ποσότητες H₂O που επένδυαν και τα επίπεδα CO₂ που εξέπεμπαν, τα ενήλικα του *D. melanogaster*, στις καθημερινές τους συμπεριφορές (Gibbs et al., 1996; Lighton 1994) και στην ωοπαραγωγή (Lee et al., 2008). Το υψηλότερο ποσοστό ενέργειας και νερού καταγράφηκε στην πτήση και στην ωοπαραγωγή, ενώ το χαμηλότερο στη συμπεριφορά ξεκούρασης. Τα αποτελέσματα του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι τα θηλυκά που διατηρούνταν στους γυάλινους σωλήνες ήταν πολύ μακροβιότερα και γέννησαν σημαντικά περισσότερα αυγά σε σχέση τα θηλυκά που διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά δημογραφίας. Επίσης, η έναρξη της ωοτοκίας σημειώθηκε νωρίτερα και η ωοπαραγωγή διήρκησε περισσότερο όταν το κλουβί διατήρησης ήταν οι γυάλινοι σωλήνες σε σχέση με τα ατομικά κλουβιά. Τα παραπάνω καταδεικνύουν υψηλότερη επένδυση ενέργειας των θηλυκών στην ωοπαραγωγή και την επιβίωση κατά τη διάρκεια παραμονής στους σωλήνες, σε αντίθεση με τα ατομικά κλουβιά, όπου τα ενεργειακά αποθέματα επενδύθηκαν σε κοστοβόρες συμπεριφορές όπως η πτήση. Ακόμη, το υπόστρωμα ωοτοκίας στα δύο μέσα διατήρησης των θηλυκών ήταν τελείως διαφορετικό αφού στα ατομικά κλουβιά αποτελούταν από πλαστικό διάτρητο ημισφαίριο, ενώ στους σωλήνες από τμήμα οργανίννας λεπτής διατομής. Η φυσική φθορά του ωοθέτη πιθανότατα να διέφερε στις δύο μεταχειρίσεις, καθώς η οργαντίνα δεν είναι σκληρή και άκαμπτη όπως το

τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας που προσομοιάζει τον καρπό, με το θηλυκό να βρίσκει γρηγορότερα κατάλληλες οπές και να αποθέτει ευκολότερα τα αυγά του. Τέλος, τα δύο μέσα διατήρησης δεν αποτελούνταν από το ίδιο υλικό καθώς οι σωλήνες ήταν γυάλινοι (borosilicate) και τα κλουβιά πλαστικά. Παρά το γεγονός ότι δεν έχει αξιολογηθεί η καταπόνηση που υφίσταται το ενήλικο κατά την προσπάθεια ανάπαυσης στα τοιχώματα των δύο υλικών, πιθανώς η καταπόνηση να είναι μεγαλύτερη στο πλαστικό τοίχωμα σε σχέση με το γυάλινο. Περαιτέρω διερεύνηση σχετικά με τις φθορές που υφίστανται τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου κατά τη διατήρησή τους σε κλουβιά από διαφορετικά υλικά θα οδηγούσαν στην εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

Στην περίπτωση των αρσενικών, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην επιβίωση όταν αυτά διατηρούνταν σε σωλήνες και σε ατομικά κλουβιά. Κατά πάσα πιθανότητα, τα αρσενικά δεν επηρεάστηκαν σε μεγάλο βαθμό από το μέσο διατήρησης, γιατί κατά την διάρκεια της ημέρας το υψηλότερο ποσοστό ενέργειάς τους επενδύεται στην συμπεριφορά εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος (Παπαναστασίου, 2014; Papadopoulos et al., 2004; 2010). Κατά την εκδήλωση της συγκεκριμένης συμπεριφοράς, το αρσενικό παραμένει σε σταθερή θέση εκκλίνοντας σεξουαλική φερομόνη καλώντας με αυτόν τον τρόπο τα θηλυκά για σύζευξη. Το σεξουαλικό κάλεσμα, αποτελεί δείκτη μακροβιότητας (Παπαναστασίου, 2014; Papadopoulos et al., 2004; 2010; Yuval et al., 1998; Warburg and Yuval, 1997). Με οπτικές παρατηρήσεις στα πειράματα του παρόντος κεφαλαίου, διαπιστώθηκε ότι τα αρσενικά παρουσίασαν υψηλή συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος κατά τη διάρκεια της ημέρας, ενώ η εκδήλωση συμπεριφοράς πτήσης δεν καταλάμβανε μεγάλο κομμάτι της ημερήσιας δραστηριότητας. Συνεπώς, η επένδυση μεγάλου χρονικού διαστήματος κατά τη διάρκεια της φωτόφασης στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος και η μειωμένη κινητική δραστηριότητα στο διάστημα αυτό πιθανώς ευθύνεται για την παραπλήσια επιβίωση των αρσενικών που διατηρούνταν στα δύο είδη κλουβιών.

Η διαφορετική σύσταση της τροφής που κατανάλωναν τα ενήλικα κατά τη διατήρησή τους σε σωλήνες και ατομικά κλουβιά και συγκεκριμένα η παροχή νερού που στη μία περίπτωση πραγματοποιούνταν μέσω της γέλης και στη δεύτερη περίπτωση μέσω φυτιλιού, ενδέχεται να επηρέασε σημαντικά τα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά. Στα πειράματα του 3^{ου} Κεφαλαίου, όπου τα έντομα και των δύο φύλων διατηρήθηκαν μαζί, σε κλουβιά plexiglass, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των δύο φύλων και σε αυτή την περίπτωση, ίσως τα αποτελέσματα να αποδίδονται στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις των ενηλίκων μεταξύ του ίδιου και διαφορετικού φύλου. Στα πειράματα του παρόντος κεφαλαίου τα άτομα διατηρήθηκαν ατομικά οπότε δεν υπήρξαν κοινωνικές αλληλεπιδράσεις που θα μπορούσαν να επηρέασαν την επιβίωση. Τα θηλυκά που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες ήταν μακροβιότερα και γέννησαν περισσότερα αυγά σε σύγκριση με αυτά που

διατηρούνταν σε ατομικά κλουβιά. Η τροφή σε μορφή γέλης πιθανώς παρείχε αποτελεσματικότερα στα θηλυκά την πρωτεΐνη, τους υδατάνθρακες και άλλα θρεπτικά στοιχεία σε σύγκριση με την τροφή που παρεχόταν στα ατομικά κλουβιά. Επίσης, η πρόσληψη νερού ενδέχεται να πραγματοποιούνταν αποτελεσματικότερα από τη γέλη σε σχέση με το φυτίλι. Στην συζήτηση του προηγούμενου κεφαλαίου (βλ. 3.4) αναλύθηκε η περίπτωση της εξασφάλισης μεγάλων ποσοτήτων μορίων νερού από τα ενήλικα μέσω της γέλης, με μικρότερο αριθμό προσπαθειών κατάποσης. Υπενθυμίζεται η ιδιότητα της γέλης από άγαρ, να φέρει στο εσωτερικό της υψηλές συγκεντρώσεις μορίων νερού και η ιδιότητα της ζάχαρης να αποτελεί πηγή νερού μέσω του μεταβολισμού. Σε έρευνα των Lehmann et al. (2000), αναφέρεται η υψηλή απώλεια νερού από τη προβοσκίδα του *D. melanogaster* κατά την εκτέλεση διαφόρων συμπεριφορών. Κατά πάσα πιθανότητα ο συνδυασμός των παραπάνω, να μειώνει την καταβαλλόμενη ενέργεια που επενδύει το έντομο όταν τρέφεται στην γέλη σε σύγκριση με την κλασσική δίαιτα.

Συνοψίζοντας, τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου δεν επηρεάστηκαν αρνητικά από την διατήρησή τους στους γυάλινους σωλήνες. Επιπρόσθετα, τα έντομα στου σωλήνες γέννησαν περισσότερα αυγά και ήταν μακροβιότερα σε σύγκριση με τα αντίστοιχα στα πλαστικά κλουβιά. Σύμφωνα με τα παραπάνω οι γυάλινοι σωλήνες του συστήματος LAM25system (Trikinetics), μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την διατήρηση των εντόμων καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους, όπως προτείνεται στην παρούσα πειραματική διαδικασία, χωρίς να επιδρούν αρνητικά στην επιβίωση και την ωοπαραγωγή.

Κεφάλαιο 5. Επίδραση της διάρκειας έκθεσης των ενηλίκων στην τροφή με βάση την γέλη από άγαρ “YS Agar”, στην διάρκεια ζωής και στην ωοπαραγωγή τους.

5.1. Εισαγωγή

Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου παρουσιάζουν μεγάλη παραλλακτικότητα με βάση τη σύσταση της τροφής και την ποσότητα που καταναλώνουν (βλ. κεφ. 1.2.4). Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνει την ωοπαραγωγή των θηλυκών και τη σεξουαλική δραστηριότητα των ενηλίκων, αυξάνοντας παράλληλα σε αρκετές περιπτώσεις τα επίπεδα θνησιμότητας (Kaspi et al., 2000; Carey et al., 2002a; 2002b; 1999). Επίσης, η πρωτεΐνη όταν παρέχεται περιοδικά σε συνδυασμό με τη ζάχαρη φαίνεται να επιδρά θετικά στη μακροβιότητα (Paranastasiou et al., 2019; Carey et al., 2002a; 2002b; 1999), σε σύγκριση με τις τροφές που περιέχουν μόνο υδατάνθρακες (ζάχαρη) και με εκείνες στις οποίες υπάρχει συνεχής διαθεσιμότητα πρωτεΐνης, χωρίς όμως να είναι πλήρως ξεκάθαρο αν η συνεχής πρόσληψη πρωτεΐνης από τα ενήλικα συνδέεται με μειωμένη επιβίωση (Carey et al., 1995, Niyazi et al., 2004).

Η καθημερινή κατανάλωση ζάχαρης και πρωτεΐνης, καθ’ όλη τη διάρκεια ζωής των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου μελετήθηκε, μεταξύ άλλων, μέσω του συστήματος CAFE που έχει αναπτυχθεί για το *D. melanogaster* (William Ja et al., 2007; Kouloussis et al., 2017). Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου παρουσιάζουν διαφορετικά επίπεδα κατανάλωσης πρωτεΐνης και ζάχαρης, ανάλογα με το φύλο, τις βιολογικές ανάγκες και την ηλικία τους. Η υψηλότερη κατανάλωση παρουσιάστηκε για την ζάχαρη και για τα δύο φύλα, με τα θηλυκά να καταναλώνουν περισσότερη ζάχαρη από ότι τα αρσενικά. Τις πρώτες 30 ημέρες τα θηλυκά εναπόθεσαν μεγάλο αριθμό αυγών. Από το διάστημα των 30 ημερών και έπειτα, τα θηλυκά καταλάωναν περισσότερη πρωτεΐνη από ότι πριν και περίπου διπλάσια ή τριπλάσια ποσότητα, σε σύγκριση με τα αρσενικά. Στη συγκεκριμένη μελέτη, δεν πραγματοποιήθηκε εκτίμηση της καθημερινής ποσότητας νερού που καταλάωναν τα ενήλικα για όλη την διάρκεια ζωής τους (Kouloussis et al., 2017). Όπως επισημαίνεται από τους William Ja et al. (2007), στο είδος *D. melanogaster*, σημαντικές ποσότητες νερού επενδύονται στην ωοτοκία. Οι Fanson et al. (2012) παρατήρησαν πως την κατανάλωση πρωτεΐνης διαδέχεται η κατανάλωση νερού καθώς απαιτούνται μεγάλες ποσότητες για τον μεταβολισμό της.

Η χρήση άγαρ στην τροφή των ενηλίκων για την παροχή νερού, σε συνδυασμό με τη ζάχαρη, την πρωτεΐνη και τα υπόλοιπα αναγκαία θρεπτικά στοιχεία, δεν αναφέρεται σε μεγάλο αριθμό βιβλιογραφικών αναφορών για τα ενήλικα της οικογένειας Tephritidae. Σε μελέτη για την μύγα της Μεσογείου,

όπου το άγαρ χρησιμοποιήθηκε ως τροφικό υπόστρωμα σε τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, τα ενήλικα δεν ξεπέρασαν κατά μέσο όρο τις 30 ημέρες ζωής (Niyazi et al., 2004), χωρίς όμως να γίνεται αναφορά στην διατηρησιμότητα της γέλης και στην περιοδική ανανέωσή της. Η παροχή της τροφής και του νερού από γέλη με βάση το άγαρ συνήθως διαρκεί για μερικές ημέρες (συνήθως δύο), πριν την εξαπόλυση των στερημένων εντόμων στην μέθοδο SIT (Niyazi et al., 2004). Σε έρευνες της καθημερινής ημερήσιας δραστηριότητας των ενηλίκων διαφόρων ειδών εντόμων που χρησιμοποιούν τα συστήματα DAMsystem και LAMsystem, επίσης χρησιμοποιούν τροφές με βάση το άγαρ αλλά η διατήρηση των ενηλίκων εντός των σωλήνων πραγματοποιείται για μικρό χρονικό διάστημα (συνήθως < 5 ημερών), με αποτέλεσμα να μην παρέχονται ασφαλή συμπεράσματα για την διατηρησιμότητα της γέλης (Bertolini et al., 2018; Dominiak et al., 2014; Fanson et al., 2013; Shuttleworth et al., 2020).

Τα κόκκινα θαλάσσια φύκη του φύλου Rhodophyta (red algae) αποτελούν την πρώτη ύλη που εκχυλίζεται για την παραγωγή του άγαρ (Agar-agar). Το άγαρ αποτελεί έναν ζελατινώδη πολυσακχαρίτη και είναι μείγμα κυρίως αγαρόζης και αγαροπηκτίνης με άλλους πολυσακχαρίτες. Η συγκέντρωση των πολυμερών στο τελικό προϊόν σκόνης, εξαρτάται από τον τρόπο επεξεργασίας και την προέλευση της πρώτης ύλης (Armisen and Galatas, 2009). Η χρήση του βρίσκει ευρεία εφαρμογή για την παραγωγή τροφικών υποστρωμάτων που χρησιμοποιούνται σε έντομα, φυτά, ζώα και ανθρώπους (Stephen et al., 2006). Ο κυριότερος πολυσακχαρίτης του είναι η αγαρόζη, η οποία προσδίδει τις ιδιότητες της ζελατινοποίησης. Η κυριότερη ιδιότητα της αγαρόζης είναι η ανάπτυξη ισχυρών δεσμών υδρογόνου στις διπλές έλικες των μακρομορίων της, η οποία και επιτρέπει την κατακράτηση υψηλών ποσοτήτων νερού στο εσωτερικό της γέλης. Το νερό και οποιαδήποτε άλλη προσθήκη σακχάρων ή πρωτεΐνης κατανέμονται ομοιόμορφα στην γέλη και καθίστανται άμεσα προσβάσιμα για τον οργανισμό που τρέφεται από αυτή. Η συγκέντρωση του νερού κατά τη ζελατινοποίηση του μείγματος εξαρτάται από την ποσότητα του άγαρ στο διάλυμα και από την συγκέντρωση των πολυσακχαριτών σε αυτό (Davies et al., 2010). Με την πάροδο του χρόνου τα συσσωματώματα των πολυσακχαριτών στην γέλη, έλκονται σταδιακά όλο και περισσότερο (Stephen et al., 2006). Η παραπάνω ιδιότητα περιορίζει την ποσότητα νερού στο υπόστρωμα, καθώς μειώνεται ο διαθέσιμος χώρος κατακράτησης και σταδιακά η γέλη συρρικνώνεται. Η προσθήκη ζάχαρης στο ήδη υπάρχων μείγμα νερού- άγαρ, δημιουργεί ανταγωνισμό μεταξύ των μορίων τους, με αποτέλεσμα η τελική γέλη να είναι περισσότερο σταθερή και ανθεκτική (Armisen and Galatas 2009; Stephen et al., 2006; Davies et al., 2010).

Όπως προαναφέρθηκε, οι μελέτες που χρησιμοποιούν τα ηλεκτρονικά συστήματα καταγραφής δραστηριότητας LAMsystem πραγματοποιούνται για διάστημα μερικών ημερών. Η χρήση του συγκεκριμένου συστήματος για

μεγάλα χρονικά διαστήματα όπως στην παρούσα διατριβή που χρησιμοποιήθηκε για όλη την διάρκεια ζωής των εντόμων, δεν έχει πραγματοποιηθεί στο παρελθόν. Η διατήρηση των εντόμων στους σωλήνες του LAM25system, καθιστά δύσκολη την παροχή και την ανανέωση του νερού και της τροφής σε τακτά χρονικά διαστήματα. Η διαδικασία ανανέωσης της τροφής κρίνεται αναγκαίο να αφήνει αδιατάραχτο το σύστημα και τα έντομα έτσι ώστε να μην επηρεάζονται οι καταγραφές της δραστηριότητας. Επίσης κατά την αλλαγή της τροφής πρέπει να μειώνεται ο κίνδυνος δραπέτευσης των εντόμων από τους σωλήνες. Επομένως, η αξιολόγηση της διατηρησιμότητας της γέλης στους σωλήνες του συστήματος για συγκεκριμένα διαστήματα μερικών ημερών ήταν απαραίτητη.

Σκοπός του παρόντος Κεφαλαίου ήταν η καταγραφή της διατηρησιμότητας της γέλης “YSAgar” σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα επιλέχθηκε το χρονικό διάστημα που μεσολαβούσε για την αλλαγή της γέλης όταν τα έντομα διατηρήθηκαν στο σύστημα LAM25system στο Κεφάλαιο 6.

5.2. Υλικά και μέθοδοι

Μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, 80 αρσενικά και 80 θηλυκά της φυλής Μπενάκειο, της μύγας της Μεσογείου, τοποθετήθηκαν ατομικά σε γυάλινους σωλήνες (Εικόνα 5.1). Το ένα άκρο του γυάλινου σωλήνα ήταν καλυμμένο με οργανίνα μικρής διατομής που συντελούσε στον αερισμό του εσωτερικού και αποτελούσε ταυτόχρονα υπόστρωμα ωοτοκίας για τα θηλυκά. Το άλλο άκρο του σωλήνα έφερε πώμα βινυλίου όπου τοποθετούταν η τροφή “YSAgar” (βλ. Κεφ. 2.3 και Κεφ. 4). Οι σωλήνες τοποθετήθηκαν ανά πέντε σε χάρτινα ικριώματα και ανά δύο τα ικριώματα σε πλαστικούς δίσκους (Εικ. 5.1). Κάτω από το άκρο που έφερε οργανίνα στερεώθηκε, πάνω στον δίσκο κομμάτι μαύρου διηθητικού χαρτιού, στο οποίο συγκεντρώνονταν τα αυγά που ωοτοκούσαν τα θηλυκά διαπερνώντας με τον ωοθέτη την οργανίνα.

Η αξιολόγηση της διατηρησιμότητας της τροφής “YSAgar”, πραγματοποιήθηκε σε τέσσερις μεταχειρίσεις των είκοσι θηλυκών και είκοσι αρσενικών η καθεμία, ανάλογα με την ανανέωση της τροφής. Συγκεκριμένα, η τροφή ανανεωνόταν στις παρακάτω μεταχειρίσεις κάθε: 1) 4 ημέρες, 2) 10 ημέρες, 3) 20 ημέρες και στην μεταχείριση 4) δεν πραγματοποιήθηκε αλλαγή. Η καταμέτρηση του αριθμού των αυγών που ωοτοκούσαν τα θηλυκά και των θανάτων των ενήλικων πραγματοποιούνταν καθημερινά. Οι παραπάνω 4 μεταχειρίσεις κατανεμήθηκαν τυχαία στα 80 αρσενικά και 80 θηλυκά, και σε κάθε μεταχείριση αντιστοιχούσαν 20 αρσενικά και 20 θηλυκά.



Εικόνα 5.1: Γυάλινοι σωλήνες που έφεραν ατομικά αρσενικά και θηλυκά της μύγας της Μεσογείου για την αξιολόγηση της διατηρησιμότητας, της τροφής “YSAgar”. Κάτω από τους σωλήνες που εμπειρεύσαν τα θηλυκά, τοποθετήθηκε μαύρο διηθητικό χαρτί ή μαύρο ύφασμα όπου συλλέγονταν και καταμετρούνταν τα αυγά.

5.3. Στατιστική ανάλυση

Οι συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των ενηλίκων και των δύο φύλων στις μεταχειρίσεις των διαφορετικών περιόδων αλλαγής της τροφής ελέγχθηκε με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model). Οι ανά δύο συγκρίσεις της επιβίωσης μεταξύ των μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση Kaplan- Meier (KM) και ο έλεγχος σημαντικότητας έγινε με το κριτήριο Log Rank Mantel-Cox.

Οι συγκρίσεις της ωοπαραγωγής μεταξύ των θηλυκών των τεσσάρων μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models- GLM) με κατανομή

Poisson και συνάρτηση σύνδεσης log. Οι περίοδοι προωτοκίας, ωτοκίας και μεταωτοκίας συγκρίθηκαν με το μοντέλο των αναλόγων κινδύνων του Cox.

5.4. Αποτελέσματα

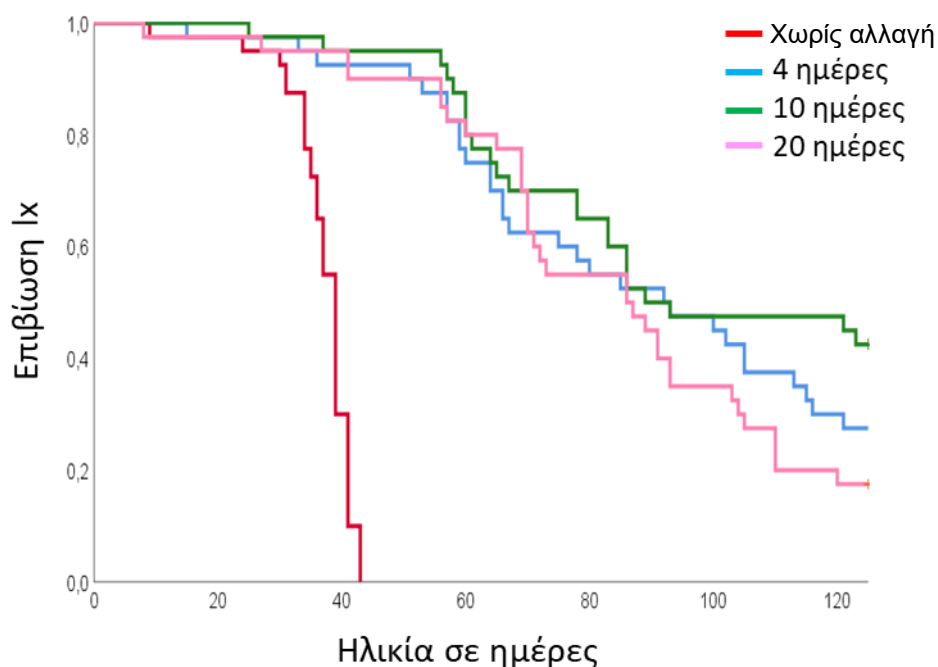
Σύμφωνα με το μοντέλο των αναλόγων κινδύνων του Cox, η μεταχείριση είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση των ενηλίκων (Wald $\chi^2 = 77,11$, $df = 3$, $P < 0,001$), ενώ τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών σε όλες τις μεταχειρίσεις (Wald $\chi^2 = 23,48$ $df = 1$, $P < 0,001$) (Πίνακας 5.1, Διαγράμματα 5.1, 5.2). Η αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο παραγόντων (διατηρησιμότητα τροφής και φύλο) ήταν επίσης σημαντική (Wald test $\chi^2 = 25,23$ $df = 3$, $P < 0,001$), καταδεικνύοντας την διαφορετική αντίδραση των θηλυκών και των αρσενικών στην περιοδική αλλαγή της κάθε 4 και 10 ημέρες.

Η επιβίωση των ενηλίκων (Διάγραμμα 5.1), που διατηρήθηκαν καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους σε τροφή χωρίς ανανέωση, ήταν μικρότερη σε σύγκριση με τις υπόλοιπες τρεις μεταχειρίσεις όπου η ανανέωση της τροφής πραγματοποιούνταν κάθε 4, 10 και 20 ημέρες αντίστοιχα, ($\chi^2_{4 \text{ ημέρες}} = 68,51$, $\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 75,37$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 68,62$, $df = 1$, $P < 0,001$). Η επιβίωση των ενηλίκων όταν η τροφή ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες δε διέφερε σημαντικά σε σχέση με την επιβίωση των ενηλίκων των δύο άλλων μεταχειρίσεων όπου η ανανέωση γινόταν κάθε 10 και 20 ημέρες, ($\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 1,54$, $df = 1$, $P = 0,214$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 0,76$, $df = 1$, $P = 0,38$). Παραπλήσια ήταν η επιβίωση των ενηλίκων όταν η τροφή ανανεωνόταν κάθε 10 και 20 ημέρες ($\chi^2 = 3,764$, $df = 1$, $P = 0,05$), και λόγω της σημαντικής αλληλεπίδρασης του φύλου με την τροφή ελέγχθηκαν ξεχωριστά τα αρσενικά και τα θηλυκά.

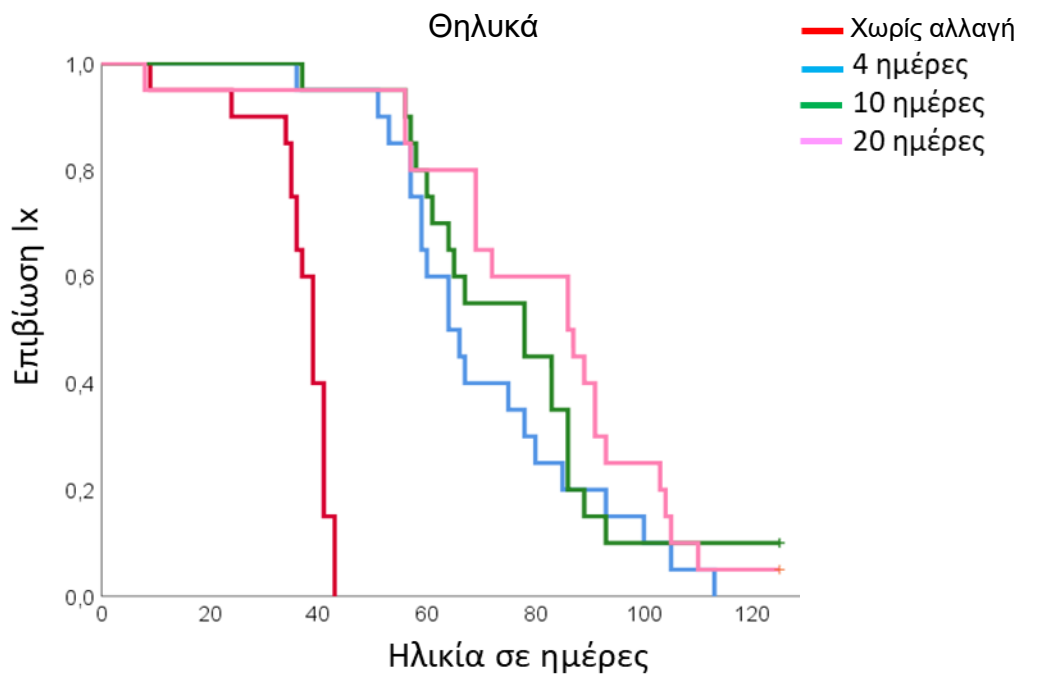
Τα θηλυκά που διατηρούνταν σε σωλήνες όπου δεν πραγματοποιούνταν ανανέωση της τροφής έζησαν σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τα θηλυκά των υπόλοιπων τριών μεταχειρίσεων ($\chi^2_{4 \text{ ημέρες}} = 36,96$, $\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 37,19$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 35,69$, $df = 1$, $P < 0,001$). Δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση των θηλυκών μεταξύ των τριών άλλων μεταχειρίσεων (Πίνακας 5.1, Διάγραμμα 5.2). Τα αρσενικά που διατηρούνταν σε σωλήνες όπου η τροφή ανανεωνόταν κάθε δέκα ημέρες έζησαν σημαντικά περισσότερο σε σχέση με τα αρσενικά στα οποία η τροφή ανανεωνόταν κάθε είκοσι ημέρες ή δεν ανανεωνόταν ποτέ ($\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 8,16$, $\chi^2_{\text{χωρίς αλλαγή}} = 36,24$, $df = 1$, $P < 0,05$) (Πίνακας 5.1, Διάγραμμα 5.3). Επίσης, τα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε τροφή η οποία ανανεωνόταν κάθε είκοσι ημέρες ήταν μακροβιότερα σε σχέση με τα αρσενικά των οποίων η τροφή δεν ανανεωνόταν ποτέ ($\chi^2_{\text{χωρίς αλλαγή}} = 32,62$ $df = 1$, $P < 0,001$). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη διάρκεια ζωής των αρσενικών στα οποία η τροφή ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες και των αρσενικών που είχαν πρόσβαση σε τροφή που ανανεωνόταν κάθε δέκα ημέρες ($\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 1,75$, $df = 1$, $P > 0,05$)

Πίνακας 5.1: Μέση διάρκεια ζωής και τεταρτημόρια (quartiles) ενηλίκων, κατά την διάρκεια διατήρησής στις 4 μεταχειρίσεις περιοδικής αλλαγής της τροφής “YSAgar”.

Διάστημα ανανέωσης τροφής	φύλο	Διάρκεια ζωής (ημέρες) ± SE			
		Μέση	Τεταρτημόρια		
			25	50	75
4 ημέρες	αρσενικά	137,8 ± 11,99	-	-	102 ± 12,59
	θηλυκά	71,1 ± 4,44	80 ± 6,78	64 ± 4,47	57 ± 2,9
10 ημέρες	αρσενικά	113,2 ± 6,26	-	-	123
	θηλυκά	76,85 ± 4,77	86 ± 1,79	78, ± 12,23	60 ± 2,9
20 ημέρες	αρσενικά	88,55 ± 7,27	-	73 ± 24,6	65, ± 4,84
	θηλυκά	81,3 ± 5,6	93 ± 11,62	86 ± 11,18	69 ± 8,53
χωρίς αλλαγή	αρσενικά	37,05 ± 0,82	39 ± 0,6	37 ± 0,75	34, ± 2,05
	θηλυκά	36,8 ± 1,76	41 ± 0,64	39 ± 1,1	35 ± 0,97



Διάγραμμα 5.1: Καμπύλες επιβίωσης των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που είχαν πρόσβαση σε τροφή τύπου “YSAgar” και η ανανέωσή της γινόταν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Η τροφή ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες (μπλε), κάθε δέκα ημέρες (πράσινο), κάθε είκοσι ημέρες (ροζ) ή δεν ανανεώθηκε ποτέ έως το θάνατο όλων των ενηλίκων (κόκκινο).



Διάγραμμα 5.2: Καμπύλες επιβίωσης θηλυκών (επάνω) και αρσενικών (κάτω) της μύγας της Μεσογείου που είχαν πρόσβαση σε τροφή “YSAgar” και η ανανέωσή της γινόταν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα. Η τροφή ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες (μπλε), κάθε δέκα ημέρες (πράσινο), κάθε είκοσι ημέρες (ροζ) ή δεν ανανεώθηκε ποτέ έως το θάνατο όλων των ενηλίκων (κόκκινο).

Η μέση συνολική ωοπαραγωγή των θηλυκών που διατηρούνταν στις τέσσερις μεταχειρίσεις ανανέωσης της τροφής δίνεται στο Διάγραμμα 5.3. Το διάστημα που μεσολαβούσε έως την ανανέωση της τροφής στο σωλήνα διατήρησης των θηλυκών επηρέασε σημαντικά την ωοπαραγωγή (Wald $\chi^2 = 3775,64$ $df = 3$, $P < 0,001$) (Πίνακας 5.2). Συγκεκριμένα, η ωοπαραγωγή δεν διέφερε μεταξύ των θηλυκών που είχαν πρόσβαση σε τροφή που ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες και αυτών που ανανεωνόταν κάθε δέκα ημέρες (Διάγραμμα 5.3). Η ωοπαραγωγή των θηλυκών που η αλλαγή της τροφής γινόταν κάθε 4 και κάθε 10 ημέρες ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από την αντίστοιχη των θηλυκών που η αλλαγή της τροφής γινόταν κάθε 20 ημέρες ή δεν ανανεωνόταν ποτέ. Τα θηλυκά στα οποία η αλλαγή της τροφής γινόταν κάθε 20 ημέρες επίσης απέδωσαν υψηλότερη ωοπαραγωγή από τα αντίστοιχα που η αλλαγή της τροφής δεν πραγματοποιήθηκε ποτέ.

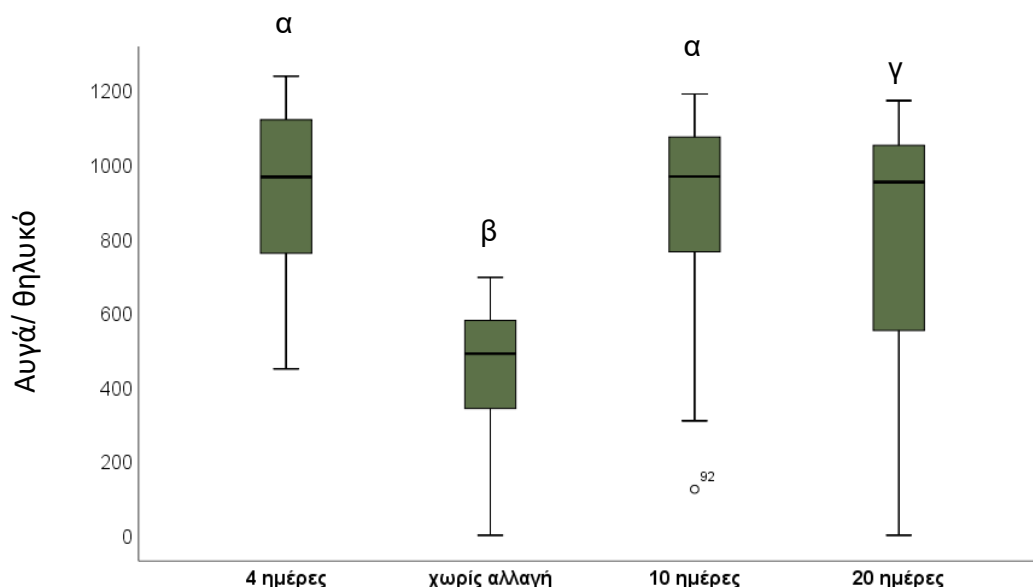
Στο Διάγραμμα 5.4 δίνεται η μέση ημερήσια ωοπαραγωγή των θηλυκών των τεσσάρων μεταχειρίσεων. Τα θηλυκά που είχαν πρόσβαση σε τροφή που ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες αύξησαν την μέση ημερήσια ωοπαραγωγή τους σε περίπου 10 αυγά/ ημέρα την 5^η ημέρα της ζωής τους και αυτά που είχαν πρόσβαση σε τροφή που ανανεωνόταν κάθε δέκα ημέρες έφτασαν τα ίδια επίπεδα ωοπαραγωγής τη 10^η ημέρα της ζωής τους. Αντίθετα, τα θηλυκά που είχαν πρόσβαση σε τροφή που ανανεωνόταν κάθε είκοσι ημέρες ή δεν ανανεωνόταν καθόλου, καθυστέρησαν την αύξηση του ημερήσιου ρυθμού ωοπαραγωγής στα 10 αυγά/ ημέρα για άλλες περίπου πέντε ημέρες, στην ηλικία των 15 ημερών περίπου. Το μέγιστο της ημερήσιας ωοπαραγωγής καταγράφηκε τη 17^η ημέρα στα θηλυκά των οποίων η τροφή ανανεωνόταν κάθε τέσσερις και 10 ημέρες και πολύ αργότερα, στην ηλικία των 30 ημερών για τα θηλυκά των οποίων η τροφή ανανεωνόταν κάθε είκοσι ημέρες ή καθόλου (Διάγραμμα 5.4). Μετά την καταγραφή της μέγιστης ημερήσιας ωοπαραγωγής, οι ρυθμοί ωοπαραγωγής σταδιακά μειώθηκαν σε όλες τις μεταχειρίσεις, με τους ρυθμούς μείωσης να είναι πιο εμφανείς στα θηλυκά που είχαν πρόσβαση σε τροφή που δεν ανανεωνόταν ποτέ.

Οι περίοδοι προωτοκίας και ωοτοκίας των θηλυκών διέφεραν σημαντικά μεταξύ των μεταχειρίσεων (Wald χ^2 προωτοκία = 36,774, Wald χ^2 ωοτοκία = 32,874, $df = 3$, $P < 0,001$) ενώ δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές στην περίοδο της μεταωοτοκίας (Διάγραμμα 5.5). Στις ανά δύο συγκρίσεις που πραγματοποιήθηκαν μεταξύ των περιόδων προωτοκίας, φάνηκε ότι τα θηλυκά της μεταχείρισης όπου η αλλαγή της τροφής πραγματοποιούνταν κάθε τέσσερις ημέρες, είχαν τη μικρότερη περίοδο προωτοκίας σε σύγκριση με τα θηλυκά των άλλων μεταχειρίσεων ($\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 20,390$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 21,004$, $\chi^2_{\text{χωρίς αλλαγή}} = 26,680$, $df = 3$, $P < 0,001$). Η περίοδος προωτοκίας δε διέφερε σημαντικά στις ανά ζεύγη συγκρίσεις μεταξύ των θηλυκών των υπόλοιπων μεταχειρίσεων ($\chi^2_{10 - 20 \text{ ημέρες}} = 2,08$, $\chi^2_{10 \text{ ημέρες} - \text{χωρίς αλλαγή}} = 4,5$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες} - \text{χωρίς αλλαγή}} = 0,51$, $df = 1$, $P > 0,05$). Ακόμη, η περίοδος ωοτοκίας των θηλυκών με πρόσβαση στην τροφή που δεν

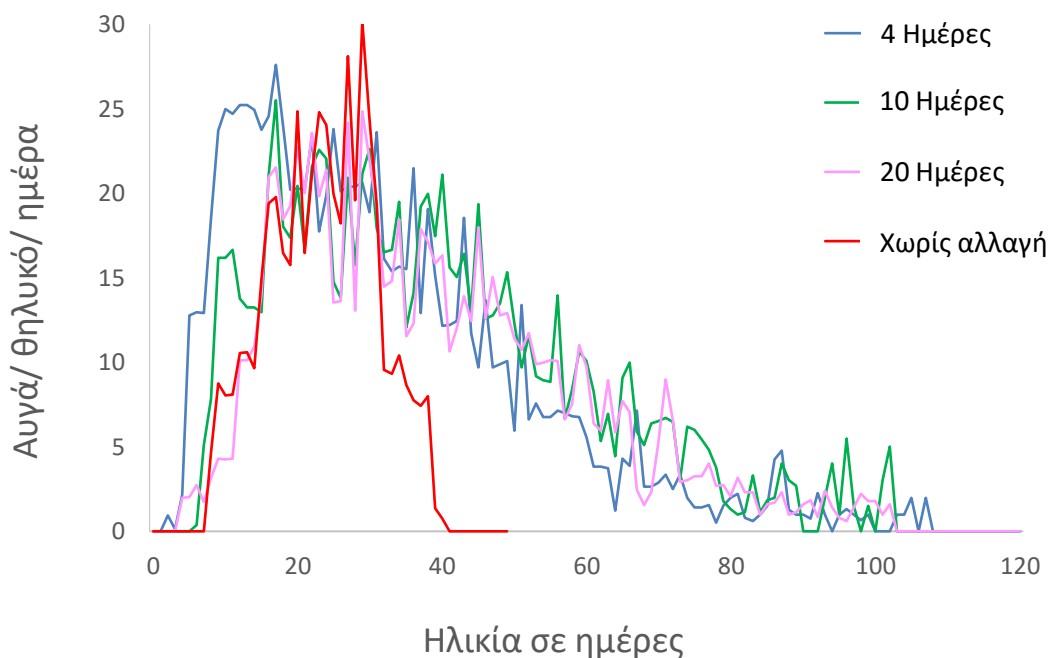
ανανεώθηκε διήρκτησε σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τις περιόδους ωτοκίας των υπόλοιπων τριών μεταχειρίσεων ($\chi^2_{10 \text{ ημέρες}} = 39,65$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 41,41$, $\chi^2_{20 \text{ ημέρες}} = 41,41$, $df = 3$, $P < 0,001$). Η περίοδος ωτοκίας δε διέφερε σημαντικά στις ανά ζεύγη συγκρίσεις μεταξύ των θηλυκών των υπόλοιπων μεταχειρίσεων.

Πίνακας 5.2: Μέσος όρος ωοπααραγωγής και περίοδοι προωτοκίας, ωτοκίας και μετά την ωτοκία για τα θηλυκά που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες όπου η τροφή "YSAgar" ανανεωνόταν κάθε τέσσερις, δέκα και είκοσι ημέρες ή δεν ανανεώθηκε ποτέ (χωρίς αλλαγή) έως το θάνατο όλων των ενηλίκων.

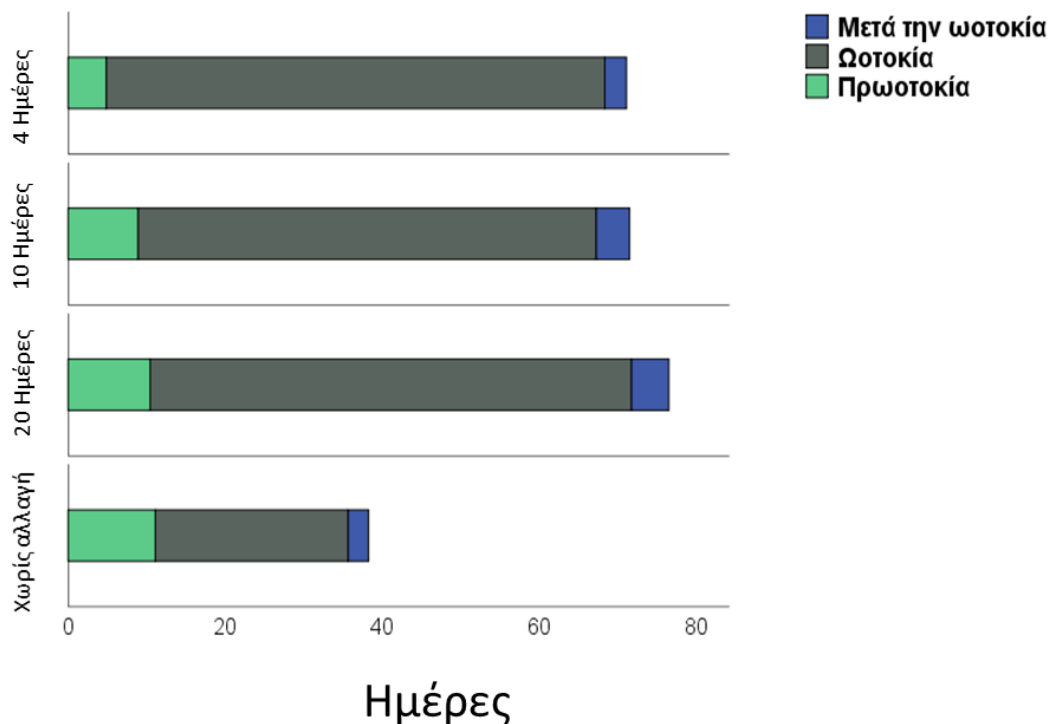
Μεταχείριση	Αυγά/ θηλυκό \pm SE	Μέσοι όροι περιόδων αναπαραγωγής σε ημέρες \pm SE		
		Προωτοκίας	Ωτοκίας	Μετά την ωτοκία
4 ημέρες	916,6 \pm 55,84	4,85 \pm 0,51	63,5 \pm 4,44	2,75 \pm 0,60
10 ημέρες	884,20 \pm 65,11	8,89 \pm 0,5	60,63 \pm 3,38	4,28 \pm 0,96
20 ημέρες	793,6 \pm 73,92	10 \pm 0,69	67,5 \pm 3,69	5,29 \pm 0,95
χωρίς αλλαγή	435,35 \pm 47,83	11,1 \pm 0,76	24,53 \pm 1,58	2,63 \pm 0,5



Διάγραμμα 5.3: Θηκόγραμμα αποτύπωσης της ωοπααραγωγής θηλυκών της μύγας της Μεσογείου που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες όπου η τροφή "YSAgar" ανανεωνόταν κάθε τέσσερις, δέκα και είκοσι ημέρες ή δεν ανανεώθηκε ποτέ (χωρίς αλλαγή) έως το θάνατο όλων των ενηλίκων. Τα κυτία που επισημαίνονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,001$).



Διάγραμμα 5.4: Ωοπαραγωγή σε σχέση με την ηλικία για τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες όπου η τροφή “YSAgar” ανανεωνόταν κάθε τέσσερις ημέρες (μπλε), κάθε δέκα ημέρες (πράσινο), κάθε είκοσι ημέρες (ροζ) ή δεν ανανεώθηκε ποτέ έως το θάνατο όλων των ενηλίκων (κόκκινο). Στις μεταχειρίσεις των 10 και 20 ημερών η ωοπαραγωγή καταγράφηκε μέχρι την 120^η ημέρα.



Διάγραμμα 5.5: Διάρκεια περιόδων πρωτοτοκίας, ωτοτοκίας και μεταωτοτοκίας σε ημέρες για τα θηλυκά που διατηρούνταν σε γυάλινους σωλήνες όπου η τροφή “YS Agar” ανανεωνόταν κάθε τέσσερις, δέκα και είκοσι ημέρες ή δεν ανανεώθηκε ποτέ (χωρίς αλλαγή) έως το θάνατο όλων των ενηλίκων.

5.5. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν, ότι η χρονική διάρκεια ανανέωσης της τροφής “YS Agar”, σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου επηρέασε σημαντικά την επιβίωση των ενηλίκων και την ωοπαραγωγή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Συγκεκριμένα, η επιβίωση των αρσενικών μειώθηκε όταν η τροφή ανανεωνόταν σε διαστήματα μεγαλύτερα των δέκα ημερών ενώ η επιβίωση των θηλυκών επηρεάστηκε αρνητικά μόνο όταν η τροφή δεν ανανεώθηκε ποτέ. Ωστόσο, οι επιπτώσεις της μακροχρόνιας διατήρησης της τροφής ήταν εμφανείς στην ωοπαραγωγή των θηλυκών. Η συχνή ανανέωση της τροφής (κάθε 4 ημέρες) οδήγησε σε αυξημένη ωοπαραγωγή και σύντομη περίοδο πρωτοτοκίας. Η τροφή των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που αποτελείται από γέλη με βάση το άγαρ συρρικνώνεται με την πάροδο του χρόνου με τη μείωση των επιπέδων του νερού που περιέχει τόσο λόγω κατανάλωσης από το έντομο όσο και λόγω εξάτμισης. Σύμφωνα με τους Stephen et al. (2006), οι ισχυροί δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των μακρομορίων της γέλης, έλκονται εντονότερα με την πάροδο του χρόνου, με αποτέλεσμα να μειώνεται η ικανότητα συγκράτησης μορίων νερού και να συρρικνώνεται σταδιακά η γέλη. Επομένως, η διαθεσιμότητα σε νερό μειωνόταν σταδιακά κατά τη διατήρηση

της τροφής για χρονικό διάστημα μεγαλύτερο από τέσσερις ημέρες στις μεταχειρίσεις του παρόντος Κεφαλαίου. Η αλλοίωση της γέλης από άγαρ σύμφωνα με τον Stephen et al. (2006) από Nakahama et al., (1966), επέρχεται με το πέρασμα 6 ημερών (144 ωρών) από την δημιουργία της. Ενδεχομένως, η καταπόνηση στα έντομα λόγω μειωμένης διαθεσιμότητας και πρόσληψης νερού εκδηλώθηκε με μείωση της επιβίωσης η οποία ήταν περισσότερο εμφανής στα αρσενικά καθώς και με μείωση της ωοπαραγωγής στα θηλυκά (William Ja et al., 2007). Στην περίπτωση κατά την οποία η τροφή δεν ανανεώθηκε ποτέ, τα ενήλικα πιθανώς να πέθαναν από αφυδάτωση καθώς η γέλη του τροφικού υποστρώματος συρρικνώθηκε σταδιακά και η διαθεσιμότητα νερού, μετά την 20^η ημέρα, ήταν ελλιπής. Επιπρόσθετα, άλλος ένας παράγοντας που μπορεί να επέδρασε αρνητικά στην επιβίωση των ενηλίκων και στην ωοπαραγωγή των θηλυκών, είναι η μείωση της διαθεσιμότητας των θρεπτικών συστατικών που περιέχονταν στην τροφή. Η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής που εμφάνισαν τα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά σε όλες τις μεταχειρίσεις επιβεβαιώνουν τα ευρήματα προηγούμενων μελετών που αποδίδουν διαφορές στο κόστος αναπαραγωγής μεταξύ των δύο φύλων (Carey, 2002b; 1984; 2011; Papadopoulos, 2002; Diamantidis et al. 2009; Muller et al., 1997; Placido- Silva et al., 2006). Η υψηλότερη περιεκτικότητα νερού απαντάται στο σώμα των εντόμων που έχουν μεγαλύτερο όγκο τα οποία παρουσιάζονται ανθεκτικότερα στην αφυδάτωση, σύμφωνα με τους Gibbs and Matzkin (2001) και Lehmann et al. (2000). Στην περίπτωση της μύγας της Μεσογείου συνήθως τα θηλυκά έχουν μεγαλύτερο μέγεθος σώματος σε σχέση με τα αρσενικά. Επίσης, οι απαιτήσεις των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου σε νερό προκειμένου να παράγουν αυγά είναι πιθανώς σημαντικά υψηλότερες σε σχέση με αυτές των αρσενικών, όπως και με των θηλυκών που δεν ωοτοκούν. Άλλωστε, στην ωοπαραγωγή των θηλυκών του *D. melanogaster* επενδύεται υψηλό ποσοστό νερού, σύμφωνα με τον Lee et al. (2008). Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν ότι τα θηλυκά μείωσαν δραματικά την ωοπαραγωγή όταν η τροφή ανανεωνόταν κάθε είκοσι ημέρες καθώς και όταν δεν πραγματοποιούσαν ανανέωση. Τα παραπάνω αποδεικνύουν την άμεσα εξαρτώμενη σχέση των επιπέδων ωοπαραγωγής από την ύπαρξη νερού στη δίαιτα των θηλυκών. Πιθανόν τα θηλυκά να εξασφαλίζουν νερό από τον μεταβολισμό της ζάχαρης σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης (Fanson et al., 2012). Το μεταβολικό νερό που αποτελεί προϊόν καταπόνησης, εκ των προτέρων επενδύεται ταυτόχρονα στις δύο βασικότερες βιολογικές ανάγκες, στην επιβίωση και στην ωοπαραγωγή. Η μείωση της ωοπαραγωγής με στόχο την επέκταση του χρόνου επιβίωσης συμφωνεί με το μοντέλο των Muller et al. (2001), που αναφέρει ότι τα νεαρά άτομα σε συνθήκες διατροφικής καταπόνησης, έχουν την ικανότητα να θυσιάσουν την ωοπαραγωγή για την επέκταση της επιβίωσης. Στα γηραιότερα άτομα ισχύει ακριβώς το αντίθετο αφού η ωοπαραγωγή με οποιοδήποτε κόστος φαίνεται να επικρατεί (Papanastasiou et al., 2013; Nestel et al., 2005). Τα θηλυκά των μεταχειρίσεων “20 ημέρες” και “χωρίς αλλαγή” ακολούθησαν το ίδιο μοτίβο,

στην προσπάθεια εξισορρόπησης της καταβαλλόμενης ενέργειας στην επιβίωση και ωοπαραγωγή. Στις νεαρές ηλικίες θυσίασαν τα υψηλά επίπεδα ωοπαραγωγής με στόχο την εξασφάλιση της επιβιώσής και στις μεγαλύτερες ηλικίες δεν σταμάτησαν να αποθέτουν αυγά παρόλη την υδατική καταπόνηση που προκαλούσε τον επερχόμενο θάνατο. Τα θηλυκά των μεταχειρίσεων “4 ημέρες” και “ 10 ημέρες” δεν διέφεραν σημαντικά μεταξύ τους ούτε στην ωοπαραγωγή ούτε στην επιβίωση. Επομένως, η διατηρησιμότητα του υποστρώματος διαρκεί περίπου 10 ημέρες, χωρίς σε αυτό το διάστημα να επηρεάζει σημαντικά τις βιολογικές παραμέτρους των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.

Στην περίπτωση των αρσενικών παρατηρήθηκε εντελώς διαφορετικό μοτίβο επιβίωσης σε σύγκριση με τα θηλυκά. Όσο συχνότερα πραγματοποιούνταν η αλλαγή της τροφής τόσο υψηλότερη αποδείχθηκε η επιβίωση των αρσενικών. Τα αρσενικά του *D. melanogaster* είναι περισσότερο ευάλωτα από τα θηλυκά στην αφυδάτωση και την υδατική καταπόνηση σύμφωνα με τον Gibbs and Matzkin (2001). Στη παρούσα πειραματική διαδικασία επιβεβαιώθηκε η συγκεκριμένη παρατήρηση, καθώς τα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε νέα τροφή κάθε τέσσερις ημέρες ήταν τα μακροβιότερα. Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, είναι μικρότερα σε μέγεθος από τα θηλυκά, με αποτέλεσμα η αντοχή τους στις καταπονήσεις να είναι μικρότερη. Επίσης, όπως προαναφέρθηκε στην Συζήτηση του 4^{ου} Κεφαλαίου, τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου επενδύουν το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα της ημερήσιας δραστηριότητας στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος, κατά την διάρκεια του οποίου το έντομο παραμένει ακίνητο. Η υδατική καταπόνηση φαίνεται πως επηρέασε διαφορετικά τα δύο φύλα και ήταν άμεσα συνδεδεμένη με την καθημερινή τους δραστηριότητα.

Η ζάχαρη πιθανότατα ήταν διαθέσιμη για τα έντομα από την γέλη με βάση το άγαρ σε όλες τις μεταχειρίσεις του πειράματος του παρόντος Κεφαλαίου. Η ενσωμάτωση ζάχαρης σε γέλη με βάση το άγαρ, δημιουργεί συνθήκες ανταγωνισμού μεταξύ των μορίων της ζάχαρης και του ίδιου του άγαρ, για τα μόρια του νερού, αυξάνοντας με τον τρόπο αυτό την σταθερότητα της γέλης (Stephen, 2006). Τα μόρια της ζάχαρης βρίσκονται ομοιόμορφα κατανομημένα στο εσωτερικό της γέλης και είναι άμεσα διαθέσιμα (Stephen, 2006). Επίσης όσο πιο σταθερή και άκαμπτη είναι η γέλη τόσο ανθεκτικότερη παρουσιάζεται στην αφυδάτωσή της στο πέρασμα του χρόνου (Stephen, 2006). Η ζάχαρη αποτελεί βασικό συστατικό της τροφής των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και φαίνεται να λειτουργεί καταλυτικά στην επιβίωση (Carey et al. 2002a). Επομένως η διαθεσιμότητα της ζάχαρης για τα έντομα από την γέλη με βάση το άγαρ στην πειραματική διαδικασία που η αλλαγή της γέλης γινόταν σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, ενδεχομένως να μην επηρέασε αρνητικά την επιβίωση των ενηλίκων.

Η πρωτεΐνη αποτελεί επίσης, βασικό συστατικό της τροφής των ενηλίκων. Άλλωστε σε εκτενή αριθμό μελετών, αναφέρεται η επέκταση της

επιβίωσης των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, που τρέφονταν σε τροφές πλούσιες σε πρωτεΐνη (Papanastasiou et al., 2019; Carey et al., 2002a; 2002b; 1999). Στην παρούσα διατριβή η τροφή των ενηλίκων σε γέλη από άγαρ περιείχε ποσότητες πρωτεΐνης ικανές να καλύπτουν τις ανάγκες των ενηλίκων. Η γέλη από άγαρ χρησιμοποιείται εκτεταμένα για την αδρανοποίηση των ενζύμων και των πρωτεϊνών (Zucca et al., 2016). Η ομοιόμορφη κατανομή των μορίων της πρωτεΐνης στο εσωτερικό της γέλης εξαρτάται από της ποσότητα του άγαρ και την προέλευση της πρώτης ύλης του (Stephen, 2006). Σε γέλη με υψηλές συγκεντρώσεις άγαρ, οι δεσμοί ανάμεσα στα μακρομόρια είναι ισχυρότεροι και οι πόροι της γέλης έχουν μικρότερη διάμετρο (Zucca et al., 2016). Αποτέλεσμα αυτού είναι η ισχυρή και ανομοιόμορφη συγκράτηση των πρωτεϊνικών μορίων και των ενζύμων στο εσωτερικό της (Zucca et al., 2016). Στην περίπτωση αυτή τα μόρια της πρωτεΐνης πιθανόν να καθίστανται μη διαθέσιμα για το έντομο, αφού με την πάροδο του χρόνου όσο η γέλη συρρικνώνεται, τα πρωτεϊνικά μόρια θεωρούνται πλήρως ανενεργά. Αντίστοιχα, όταν η συγκέντρωση του άγαρ είναι χαμηλότερη στη γέλη, οι πόροι έχουν μεγαλύτερη διάμετρο και έτσι η πρωτεΐνη είναι άμεσα διαθέσιμη και ομοιόμορφα κατανεμημένη (Zucca et al., 2016). Στην περίπτωση της παρούσα πειραματικής διαδικασίας η περιεκτικότητα του άγαρ ήταν αρκετά χαμηλή στην γέλη και έτσι κατά πάσα πιθανότητα τα έντομα είχαν πρόσβαση σε αυτήν. Με την πάροδο του χρόνου όμως η γέλη συρρικνωνόταν, με αποτέλεσμα τα μόρια της πρωτεΐνης να μην ήταν διαθέσιμα για τα έντομα. Για τον λόγο αυτό, ενισχύονται οι πιθανότητες, αύξησης της θνησιμότητας των ενηλίκων στην γέλη που η αλλαγή της δεν πραγματοποιήθηκε ποτέ και με το πέρασμα των ημερών συρρικνώθηκε.

Περαιτέρω μελέτη της διατηρησιμότητας των τροφών από γέλη με βάση το άγαρ, ίσως αποσαφηνίσουν τα αποτελέσματα του παρόντος κεφαλαίου. Η συμβολή του νερού, της ζάχαρης και της πρωτεΐνης, στην επιβίωση και την ωοπαραγωγή των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου φαίνεται να είναι καθοριστική. Για τον λόγο αυτόν κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω ανάλυση της ακριβέστερης συσχέτισης των παραγόντων όπως έχει πραγματοποιηθεί σε άλλα είδη (π.χ. *D. melanogaster*).

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του παρόντος κεφαλαίου το χρονικό διάστημα αλλαγής της τροφής “YSAgar” που δεν επηρεάζει την επιβίωση και την ωοπαραγωγή των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου κυμάνθηκε στις 4 με 10 ημέρες. Επομένως, κατά την διατήρηση των ενηλίκων στο LAM25system που περιγράφεται στο Κεφάλαιο 6, για την αποφυγή καταπόνησης, προτάθηκε η αλλαγή της γέλης κάθε 4 ημέρες.

Κεφάλαιο 6. Λεπτομερείς καταγραφή της δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σε όλη την διάρκεια της ζωής τους.

6.1. Εισαγωγή

Η μελέτη της ημερήσιας δραστηριότητας με έμφαση στην κίνηση στους ανώτερους οργανισμούς συμβάλλει στην εξαγωγή συμπερασμάτων που σχετίζονται με τη διατροφή, την υγεία, το γήρας και τις περιβαλλοντικές συνθήκες διαβίωσης τους (Martin, 2003). Η συμπεριφορά είναι αλληλένδετη με την κίνηση και λειτουργεί καταλυτικά στην ικανότητα ανταπόκρισης του ατόμου στα περιβαλλοντικά ερεθίσματα, στην επιβίωση και στην αναπαραγωγή του (Martin, 2003).

Το είδος *D. melanogaster* αποτελεί οργανισμό μοντέλο, που χρησιμοποιείται στην μελέτη της ημερήσιας δραστηριότητας και των κινητικών ρυθμών σε σχέση με την ηλικία, ενώ χρησιμοποιείται επίσης και σε μελέτες του μεταβολισμού, του ύπνου και του γήρατος (Martin, 2003; Rosato and Kyriacou 2006; Liu et al., 2015). Το μοτίβο της καθημερινής δραστηριότητας του συγκεκριμένου εντόμου διαφέρει ανάλογα με το φύλο, την ηλικία, τη διατροφή και την αναπαραγωγική του κατάσταση (Martin, 2003; Catterson et al., 2010). Στα νεαρά άτομα, οι υψηλότερες καταγραφές δραστηριότητας πραγματοποιούνται κατά τη διάρκεια των πρώτων ωρών της φωτοπεριόδου και πριν το τέλος αυτής, ενώ κατά τη διάρκεια της νύχτας η δραστηριότητα είναι μηδενική. Αντιθέτα, στις προχωρημένες ηλικίες η δραστηριότητα των των ενηλίκων του *D. melanogaster* αλλάζει μοτίβο, διατηρώντας σε υψηλότερα επίπεδα τις περιόδους ξεκούρασης κατά τη διάρκεια της ημέρας και μειώνοντας τα επίπεδα συνεχούς και βαθύ ύπνου κατά την διάρκεια της νύχτας (Zhao et al., 2018; Koh et al., 2006; Umezaki et al., 2012). Η ανάγκη για διαρκή παρακολούθηση του εντόμου ατομικά σε διάφορες συνθήκες και για μεγάλα χρονικά διαστήματα, οδήγησε στην δημιουργία υψηλής ποιότητας, αυτοματοποιημένων εργαστηριακών οργάνων που καταγράφουν την κίνηση των εντόμων (Rosato & Kyriacou, 2006). Ευρέως πλέον χρησιμοποιούμενες, είναι οι ποικίλες εκδόσεις των εργαστηριακών οργάνων, DAMsystem (*Drosophila* Activity Monitor) και LAMsystem (Locomotor Activity Monitor) (Trikinetics) (Pfeiffenberger et al., 2010), ενώ σε άλλες μελέτες αναφέρονται συστήματα συνεχούς βιντεοσκόπησης (Donelson et al. 2012; Prenter et al., 2013).

Στα είδη της οικογένειας Tephritidae, οι μελέτες που αφορούν τη δραστηριότητα και την κίνηση των ενηλίκων είναι περιορισμένες. Το σύστημα BMS (Behavioral Monitoring System) χρησιμοποιήθηκε από τους Zou et al. (2011) και τους Chiu et al. (2013), για την καθημερινή παρατήρηση της συμπεριφοράς των θηλυκών του *A. ludens*, σε συνδυασμό με την ποιότητα της τροφής και την ηλικία. Τα ενήλικα που τρέφονταν σε τροφή με ζάχαρη και

πρωτεΐνη, έζησαν περισσότερο από τα αντίστοιχα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ενώ μέχρι και την ηλικία των 60 ημερών τα άτομα που τρέφονταν με ζάχαρη παρουσίασαν υψηλότερα επίπεδα δραστηριότητας. Επίσης, οι ηλικιακές κλάσεις της νεαρής, μέσης και γηραιότερης ηλικίας παρουσίασαν διαφορετικό μοτίβο συμπεριφοράς κατά τη διάρκεια της ημέρας.

Στο είδος *B. tryoni*, χρησιμοποιώντας το LAM10system (Trikinetics), συσχετίστηκε η ημερήσια δραστηριότητα με τη συγκέντρωση πρωτεΐνης και θρεπτικών στοιχείων στη τροφή των ενηλίκων (Fanson et al., 2013). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα αρσενικά ήταν περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά κατά την διάρκεια της ημέρας, ανεξάρτητα από την τροφή. Τα άτομα των οποίων η τροφή περιείχε υψηλότερες συγκεντρώσεις υδατανθράκων, ήταν πιο δραστήρια από αυτά που η τροφή τους περιείχε περισσότερη πρωτεΐνη. Η ηλεκτρονική καταγραφή της δραστηριότητας των ενηλίκων *B. tryoni* πραγματοποιήθηκε για διάστημα 62 ωρών, κατά το οποίο παρατηρήθηκε μείωση της δραστηριότητας μετά την πρώτη ημέρα ανεξάρτητα, από την τροφή και το φύλο. Χρησιμοποιώντας το ίδιο σύστημα, οι Dominiak et al. (2014), κατέγραψαν την επίδραση της ακτινοβολίας κατά τη στείρωση ενηλίκων *B. tryoni*, στη μετέπειτα ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών. Η ακτινοβολία και στα δύο φύλα δεν επηρέασε σημαντικά την επιβίωση, ενώ τα αρσενικά καθ' όλη την διάρκεια της ημέρας ήταν περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά. Οι υψηλές δόσεις ακτινοβολίας μείωσαν τη δραστηριότητα των αρσενικών ενώ φάνηκε να επηρέασαν σημαντικά τη δραστηριότητα των θηλυκών.

Οι Weldon et al. (2010), χρησιμοποιώντας ένα σύστημα βιντεοσκόπησης του εσωτερικού των κλουβιών, μελέτησαν τις διαφορές στη συμπεριφορά, ανάμεσα σε γόνιμα και στείρα ενήλικα του *B. tryoni*, που προέρχονταν από εργαστηριακή εκτροφή, με αντίστοιχα άγρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η δραστηριότητα των γόνιμων και στείρων ενηλίκων που προέρχονταν από την εκτροφή ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με εκείνη των άγριων. Ακόμη, στην ίδια έρευνα βρέθηκε ότι τα γόνιμα άτομα εκτροφής ήταν περισσότερο δραστήρια από τα στείρα. Το φύλο δεν είχε σημαντική επίδραση στην ημερήσια δραστηριότητα. Η ύπαρξη ενδοσυμβιωτικών βακτηρίων στη δίαιτα των ενηλίκων του *B. tryoni*, δεν επηρέασε την καθημερινή ημερήσια δραστηριότητά τους, σύμφωνα με τους Shuttleworth et al. (2020).

Στον δάκο της ελιάς (*Bactrocera oleae*) πραγματοποιήθηκε προσπάθεια χαρακτηρισμού των κερκάρδιων ρυθμών σε δύο άγριους και έναν εργαστηριακό πληθυσμό, μέσω του LAMsystem, από τους Bertolini et al. (2018). Η μελέτη απέδειξε, πως μεταξύ των υπό εξέταση πληθυσμών, υπήρξαν σημαντικές διαφορές στην δραστηριότητα. Όλα τα ενήλικα ήταν ενεργά κατά την διάρκεια της φωτοπεριόδου, με τις μέγιστες καταγραφές να παρουσιάζονται κατά τις πρώτες και τελευταίες ώρες της φωτόφασης. Η διατήρηση των ατόμων κάτω από συνθήκες συνεχούς σκοταδιού, για όλη τη

διάρκεια της ημέρας, προκάλεσε αρρυθμίες και σημαντικές αλλαγές στο μοτίβο της δραστηριότητας όταν αυτά επέστρεψαν στην φωτοπερίοδο των 12 ωρών φωτός. Τα αρσενικά του εργαστηριακού πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκε ήταν τα περισσότερα δραστήρια από τα αντίστοιχα των άγριων πληθυσμών. Ο συγκεκριμένος εργαστηριακός πληθυσμός είναι γενετικά τροποποιημένος με τέτοιο τρόπο ώστε οι απόγονοί του να είναι μόνο αρσενικά άτομα που χρησιμοποιούνται για τις ανάγκες της τεχνικής εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων (SIT).

Στην περίπτωση της μύγας της Μεσογείου, η παρατήρηση της ημερήσιας κίνησης και συμπεριφοράς αναφέρεται σε ένα πολύ μικρό κομμάτι της διεθνούς βιβλιογραφίας. Οι Rujol-Lereis et al. (2012), συσχέτισαν τη συμπεριφορά των ενηλίκων με τη συγκέντρωση των λιπιδίων στο σώμα τους και με την επίδραση της θερμοκρασίας, σε διάφορα στάδια της ζωής τους. Η Παπαναστασίου (2014), με οπτικές παρατηρήσεις για δύο μόνο ώρες κατά τη διάρκεια της ημέρας, απέδωσε τις διαφορές στην ημερήσια συμπεριφορά των αρσενικών και θηλυκών στην ποιότητα τροφής τους, στο φύλο και στην ηλικία. Τα αρσενικά άτομα αποδείχθηκαν περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά, με την κύρια δραστηριότητα κατά το διάστημα παρατήρησης να είναι το σεξουαλικό κάλεσμα. Τα θηλυκά δεν εμφάνισαν υψηλά επίπεδα δραστηριότητας αλλά δεν αξιολογήθηκε η συμπεριφορά ωτοκίας, αφού δεν είχαν πρόσβαση σε υπόστρωμα ωτοκίας στο εσωτερικό του κλουβιού παρατήρησης. Η ηλικία και η συσχέτισή της με την ύπαρξη πρωτεΐνης στη τροφή, αποδείχθηκε καθοριστικός παράγοντας μείωσης ή αύξησης, της συχνότητας εκδήλωσης συγκεκριμένων συμπεριφορών και δραστηριότητας.

Στον παρόν κεφάλαιο, εξετάστηκε η καθημερινή δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών της μύγας της Μεσογείου με καταγραφή της κίνησης κάθε λεπτό για όλο το εικοσιτετράωρο, από την έξοδο των ενηλίκων έως την 99^η ημέρα ζωής τους. Η συσχέτιση της δραστηριότητας με την ηλικία, την ωοπαραγωγή και την τροφή, δεν έχει πραγματοποιηθεί το παρελθόν, για την μύγας της Μεσογείου. Η δραστηριότητα των δύο φύλων και η ωοπαραγωγή των θηλυκών μεταβάλλονται με την αύξηση των ηλικιών. Η καταγραφή αυτών των μεταβολών στα πειράματα του συγκεκριμένου κεφαλαίου βοήθησε στην κατανόηση της μελέτης του γήρατος και της πτώσης της δραστηριότητας με την αύξηση της ηλικίας.

6.2. Υλικά και μέθοδοι

Το σύστημα LAM25system (Trikinetics) αποτελεί όργανο μέτρησης της καθημερινής δραστηριότητας διαφόρων ειδών εντόμων και άλλων οργανισμών (Εικ. 6.1). Η λειτουργία του βασίζεται στη χρήση υπέρυθρης ακτινοβολίας για την καταγραφή της δραστηριότητας του οργανισμού που

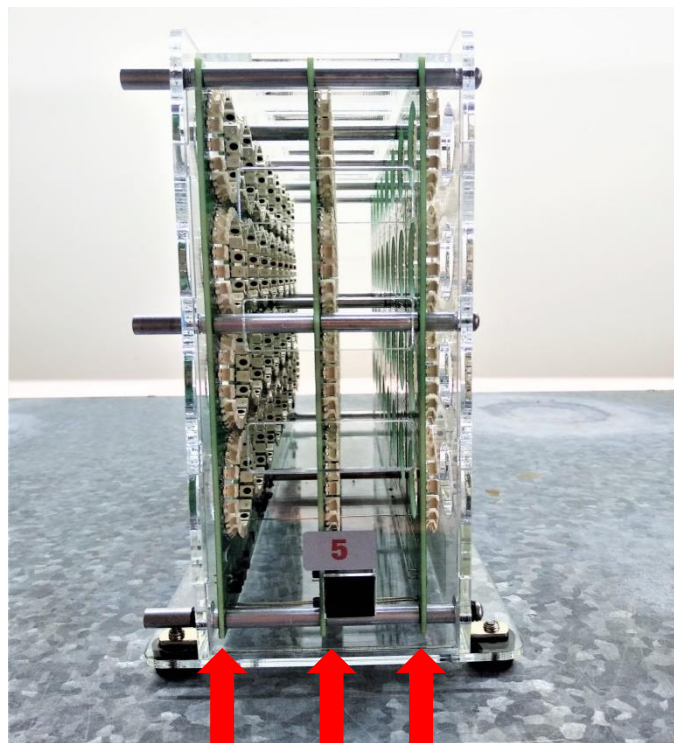
μελετάται. Αποτελείται από τρεις συστοιχίες κυκλικών δακτυλίων που φέρουν ανιχνευτές κίνησης (infrared beams), κάθετα διατεταγμένες προς την βάση της συσκευής και παράλληλα μεταξύ τους σε ίσες αποστάσεις (Εικ. 6.2). Κάθε συστοιχία φέρει 32 κυκλικούς δακτυλίους διατεταγμένους σε 8 στήλες και 4 σειρές. Οι δακτύλιοι αποτελούν σημεία τοποθέτησης των γυάλινων σωλήνων διατήρησης των εντόμων (tubes), που περιγράφηκαν στα Κεφάλαια 4 και 5 (Εικ 6.3). Λόγω της παράλληλης διάταξης των τριών συστοιχιών ο γυάλινος σωλήνας τοποθετείται έτσι ώστε να διαπερνάται και από τους τρεις δακτυλίους ταυτόχρονα. Ο κάθε δακτύλιος φέρει 9 υπέρυθρους ανιχνευτές κίνησης διατεταγμένους κυκλικά (Εικ. 6.4). Με τον τρόπο αυτό κάθε σωλήνας φέρει 3 σημεία ανίχνευσης της κίνησης, ένα από κάθε συστοιχία (monitor). Ως μία κίνηση και κατ' επέκταση μία καταγραφή μεταφράζεται η διακοπή της υπέρυθρης ακτίνας από το σώμα του οργανισμού που περνά στο σημείο πρόσπτωσης της.

Το LAM25system συνδέεται ενσύρματα με το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής των μετρήσεων PSIU9 (Trikinetics), το οποίο με την σειρά του συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή, όπου αποθηκεύονται τα δεδομένα (6.5). Η αποθήκευση πραγματοποιείται σε φακέλους καταγραφής τύπου "txt". Η ενεργοποίηση των ανιχνευτών κίνησης προκαλεί αυτόματη καταγραφή της από το προσαρμοσμένο λογισμικό σύστημα DAMsystem3Software Data Collection (Trikinetics) που είναι εγκατεστημένο στον ηλεκτρονικού υπολογιστή. Οι διαστάσεις της συσκευής είναι 32×12×20 cm χωρίς τους γυάλινους σωλήνες. Τα καλώδια που συνδέουν το LAM25system με το PSIU9 και τον ηλεκτρονικό υπολογιστή είναι τηλεφωνικού τύπου.

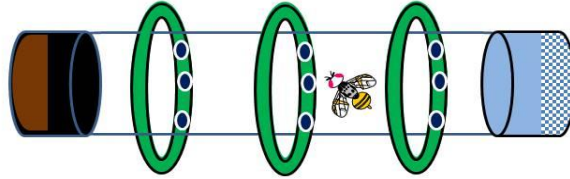
Κατά τη διάρκεια ενός πειράματος, το οποίο μπορεί να διαρκέσει ημέρες, εβδομάδες ή και μήνες τα κυκλώματα μέτρησης συνεχώς παρακολουθούν την δραστηριότητα σε κάθε γυάλινο σωλήνα, και σε περιοδικά χρονικά διαστήματα που επιλέγει ο χρήστης εξάγονται οι συνολικές καταγραφές. Ο χρήστης έχει την ικανότητα να επιλέξει το περιοδικό διάστημα καταγραφής που επιθυμεί και μπορεί να είναι από 1 λεπτό μέχρι και ώρες, μέσω της ειδικής ηλεκτρονικής πλατφόρμας (DAMsystem3Software Data Collection) στον υπολογιστή καταγραφής. Με τον τρόπο αυτό συλλέγονται δεδομένα σε ημερήσια βάση, για όλη την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας και ομαδοποιημένα σε χρονικά διαστήματα. Η ανάλυση των δεδομένων αυτών παρέχει την δυνατότητα καταγραφής της ημερήσιας δραστηριότητας του κάθε ατόμου.



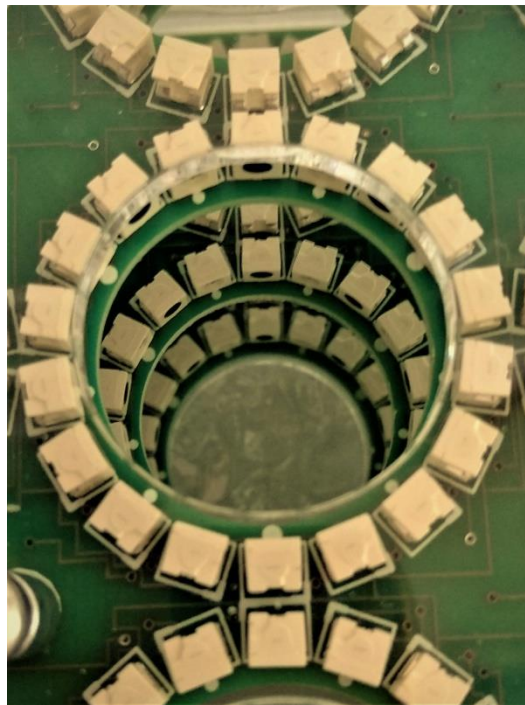
Εικόνα 6.1: Σύστημα ημερήσιας καταγραφής δραστηριότητας LAM25system (Trikinetics) με τους γυάλινους σωλήνες τοποθετημένους στα 32 σημεία εισόδου.



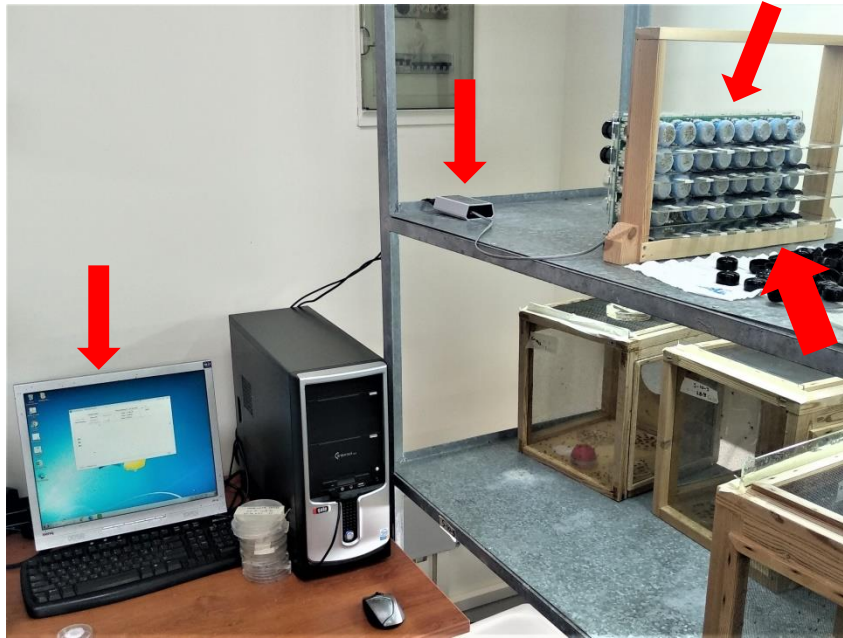
Εικόνα 6.2: Οι τρεις συστοιχίες δακτυλίων του LAM25system (Trikinetics).



Εικόνα 6.3: Διάγραμμα του γυάλινου σωλήνα που φέρει το έντομο και προσαρμόζεται στο σύστημα καταγραφής της κίνησης LAM25system. Από αριστερά προς τα δεξιά διακρίνεται το μαύρου χρώματος πώμα βινυλίου που περιέχει την τροφή 'YSAgar', με το πράσινο χρώμα οι συστοιχίες κυκλικών δακτυλίων καταγραφής κίνησης, το έντομο στο εσωτερικό του σωλήνα και το υπόστρωμα ωτοκίας στην δεξιά άκρη του σωλήνα.



Εικόνα 6.4: Συστοιχία υπέρυθρων ανιχνευτών κίνησης (laser beams). Διακρίνονται οι τρεις δακτύλιοι ανιχνευτών κατά μήκος του σημείου τοποθέτησης γυάλινου σωλήνα.

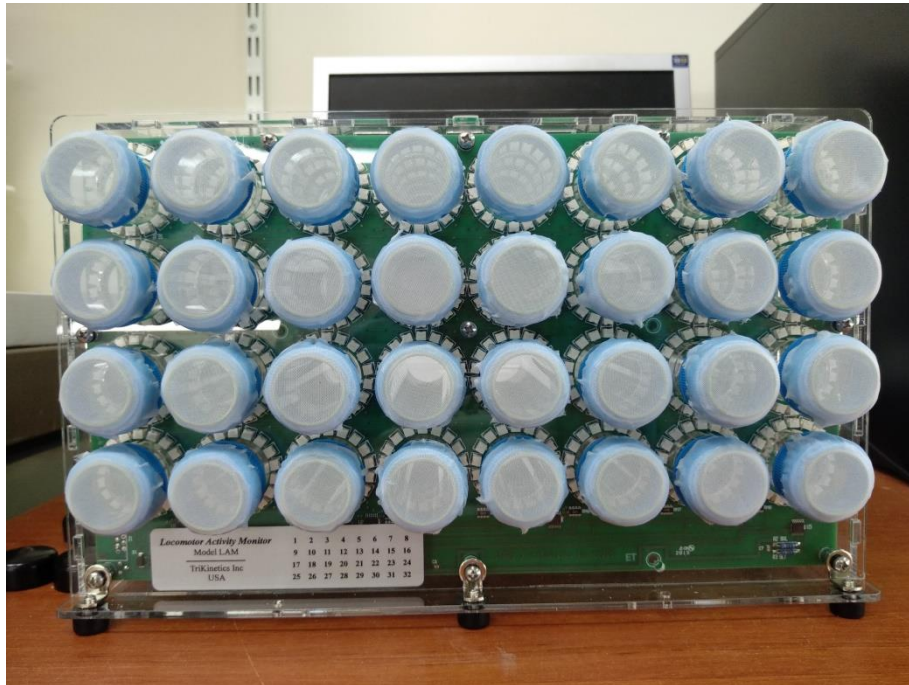


Εικόνα 6.5: Άποψη του συστήματος LAM25system στο εντομοδωμάτιο. Από αριστερά προς τα δεξιά επισημαίνονται ο υπολογιστής καταγραφής, το σύστημα PSU9, το LAM25system και η ξύλινη κατασκευή συγκέντρωσης των εναποτεθέντων αυγών.

Για τις ανάγκες της συγκεκριμένης πειραματικής διαδικασίας προσαρμόστηκε στους σωλήνες του LAM25system το υπόστρωμα ωτοκίας (Εικ.6.6) και το πώμα βινυλίου με την τροφή “YSAgar”, που περιγράφεται αναλυτικά στα Κεφάλαια 4 και 5 (Εικ 6.3). Επιπρόσθετα, στην πλευρά των σωλήνων που έφεραν το υπόστρωμα ωτοκίας, τοποθετήθηκε μία ξύλινη κατασκευή (πλατφόρμα συλλογής αυγών) με τέσσερις επίπεδες επιφάνειες από Plexiglas (Εικ. 6.7, 6.8). Στις επίπεδες επιφάνειες της κατασκευής προσαρμόστηκε μαύρο διηθητικό χαρτί για τη διευκόλυνση της καταμέτρησης των αυγών που έπεφταν από την οργανίνα που αποτελούσε το υπόστρωμα ωτοκίας. Η καταγραφή της κίνησης πραγματοποιούνταν από τρεις συστοιχίες (monitor) σε κάθε σωλήνα. Ένα από τα τρία “monitor” βρισκόταν κοντά στην τροφή, το δεύτερο βρισκόταν στο μέσο του σωλήνα και το τρίτο κοντά στην οργανίνα, που βρισκόταν στο άλλο άκρο του σωλήνα και αποτελούσε ταυτόχρονα υπόστρωμα ωτοκίας.

Για τις ανάγκες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν 16 αρσενικά και 16 θηλυκά της μύγας της Μεσογείου της εργαστηριακής φυλής “Μπενάκειο”, τα οποία και τοποθετήθηκαν στους γυάλινους σωλήνες αμέσως μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα. Καταγραφόταν καθημερινά, ο αριθμός των αυγών που εναπέθετε το κάθε θηλυκό και ο θάνατος των ενηλίκων. Η αλλαγή της τροφής πραγματοποιούνταν κάθε 4 ημέρες. Η καταγραφή της ημερήσιας δραστηριότητας των ενηλίκων, πραγματοποιήθηκε από την πρώτη μέρα μετά την έξοδο των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα έως την ηλικία των 99

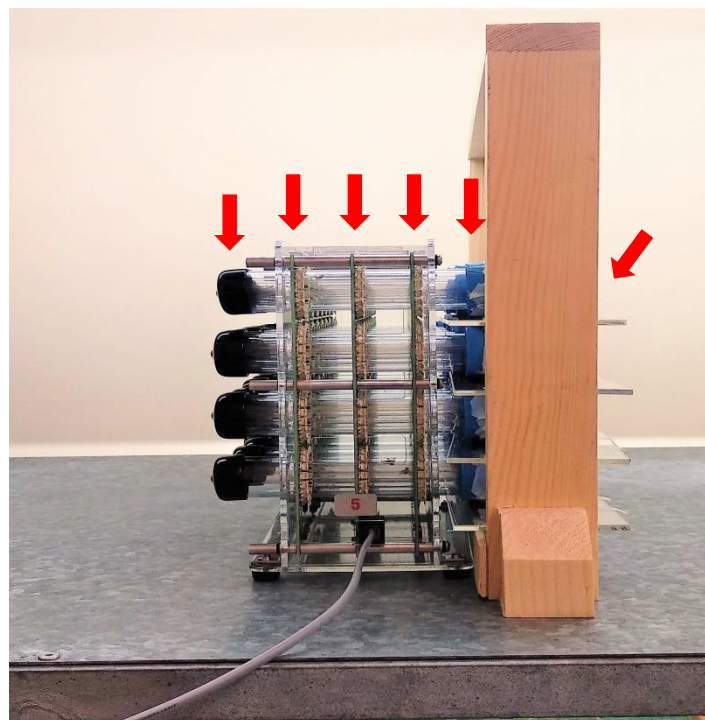
ημερών. Η επιβίωση των αρσενικών που διατηρήθηκαν στο σύστημα και μετά το πέρας των 99 ημερών καταγραφής της δραστηριότητας, υπολογίστηκε έως και τον θάνατο του τελευταίου ατόμου. Το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής τοποθετήθηκε εντός του εντομοδωματίου σε συνθήκες που αναφέρονται στο Κεφάλαιο 2 και προγραμματίστηκε να αποστέλλει τις κινήσεις που κατέγραφε κάθε λεπτό (Εικ. 6.7). Οι κινήσεις των ενηλίκων καταγράφονταν όλο το 24ώρο.



Εικόνα 6.6: Σύστημα καταγραφής κίνησης/ δραστηριότητας (LAM25system). Διακρίνονται οι 32 κυλινδρικοί γυάλινοι σωλήνες τοποθετημένοι σε 4 σειρές και 8 στήλες καθώς και το υπόστρωμα ωτοκίας που τοποθετήθηκε στην μία άκρη του γυάλινου σωλήνα.



Εικόνα 6.7: Το LAM25system με προσαρμοσμένη ξύλινη κατασκευή/ πλατφόρμα για την καταμέτρηση των αυγών.



Εικόνα 6.8: Πλευρική απεικόνιση του συστήματος καταγραφής ημερήσιας δραστηριότητας LAM25system. Από αριστερά προς τα δεξιά με κόκκινες σημάνσεις διακρίνονται το πώμα βινυλίου με την τροφή “YSAgar”, το μόνιτορ κοντά στην τροφή, το αντίστοιχο στο κέντρο και το μόνιτορ κοντά στο υπόστρωμα ωτοκίας δίπλα στην ξύλινη κατασκευή συλλογής των αυγών.

6.3. Στατιστική ανάλυση

Οι διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των δύο φύλων ελέγχθηκαν με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model). Η επίδραση της χρονικής στιγμής εντός του 24ώρου, της ηλικίας (2, 11, 21, 42 και 81 ημερών) και του φύλου στη μέση δραστηριότητα ανά άτομο, εκτιμήθηκε με την ανάλυση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models – GLM's) με κατανομή Poisson και συνάρτηση σύνδεσης log. Επίσης, η επίδραση της ηλικίας και του φύλου στη μέση ημερήσια δραστηριότητα (ημερήσιο άθροισμα καταγραφής κινήσεων στα τρία μόνιτορ για κάθε άτομο δια του συνόλου των ατόμων που επιβίωναν κάθε ημέρα έως την ηλικία των 99 ημερών), ελέγχθηκε με την ανάλυση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models – GLM's) με κατανομή Gamma και συνάρτηση σύνδεσης log. Η συσχέτιση της μέσης ημερήσιας δραστηριότητας των θηλυκών με τη διάρκεια ζωής τους πραγματοποιήθηκε με το μοντέλο της γραμμικής παλινδρόμησης (linear regression). Η επίδραση του φύλου και της ηλικίας [ηλικιακές κλάσεις που υπολογίστηκαν είτε με βάση το ποσοστό θνησιμότητας της κοορτής (0, 50 και 75%) είτε αυθαίρετα (10-15, 40-45 και 70-75 ημερών)] στο ποσοστό του συνολικού χρονικού διαστήματος κατά το οποίο τα ενήλικα ήταν δραστήρια, εκτιμήθηκε με την ανάλυση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models – GLM's) με κατανομή Normal και συνάρτηση σύνδεσης log-identity. Τέλος, η επίδραση του φύλου, της ηλικίας (10-15, 40-45 και 70-75 ημερών) και του μόνιτορ καταγραφής της κίνησης στο ποσοστό του συνολικού χρονικού διαστήματος κατά το οποίο τα ενήλικα ήταν δραστήρια, ελέγχθηκε με την ανάλυση των γενικευμένων γραμμικών μοντέλων (Generalized Linear Models – GLM's) με κατανομή Normal και συνάρτηση σύνδεσης log-identity.

6.4. Αποτελέσματα

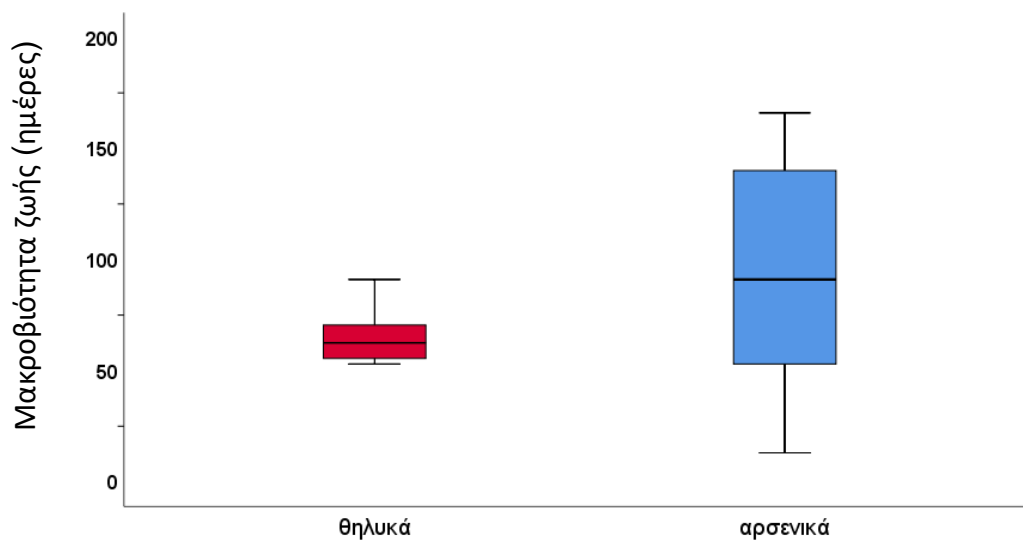
Δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων που διατηρούνταν στο LAM25system

Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου έζησαν σημαντικά περισσότερο σε σχέση με τα θηλυκά κατά τη διατήρησή τους στους γυάλινους σωλήνες καταγραφής της ημερήσιας δραστηριότητας του συστήματος LAM25system (Wald $\chi^2 = 4,350$, $df = 1$, $P < 0,05$) (Πίνακας 6.1, Διαγράμματα 6.1). Το 50% των αρσενικών επιβίωσε μέχρι την 74^η ημέρα και το αντίστοιχο των θηλυκών μέχρι την 59^η. Η διάρκεια ζωής του μακροβιότερου αρσενικού (166 ημέρες) διέφερε κατά 75 ημέρες από την αντίστοιχη του μακροβιότερου θηλυκού (91

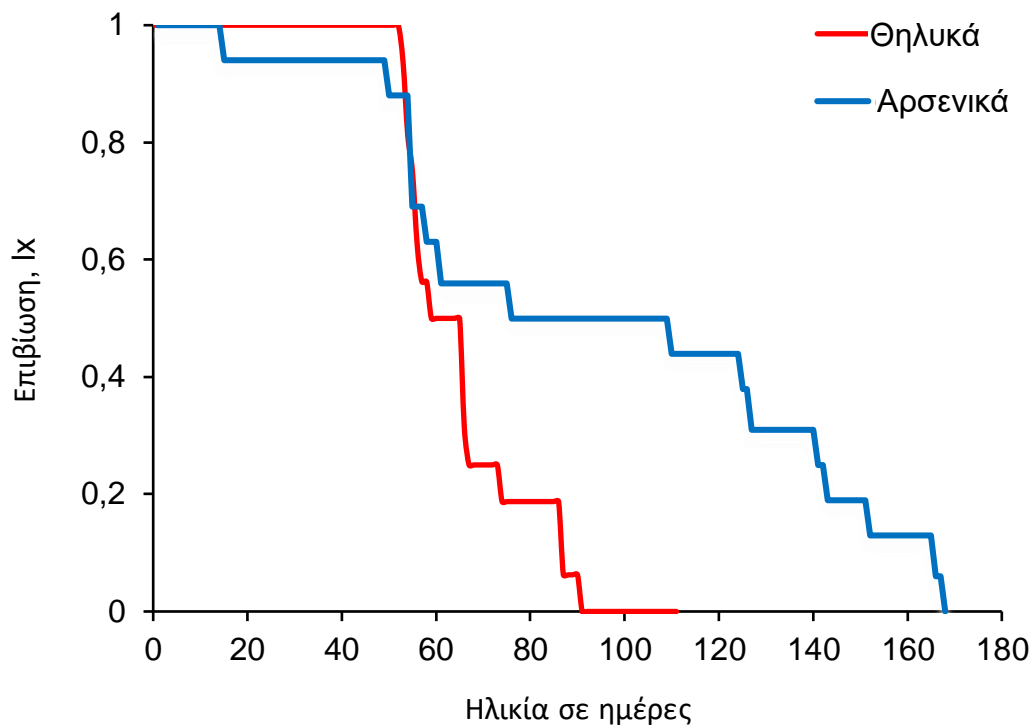
ημέρες). Ο ρυθμός θνησιμότητας αυξανόταν παραπλήσια μέχρι και την 60^η ημέρα για τα δύο φύλα ενώ τις επόμενες ημέρες για τα θηλυκά η αύξηση ήταν εντονότερη σε σύγκριση με τα αρσενικά (Διάγραμμα 6.2).

Πίνακας 6.1: Μέση επιβίωση και τεταρτημόρια επιβίωσης των αρσενικών και θηλυκών που διατηρήθηκαν στο LAM25system.

	Διάρκεια ζωής (ημέρες) ± SE			
		Τεταρτημόρια		
φύλο	Μέση	25	50	75
αρσενικά	95,31 ± 12,28	139,0 ± 13,86	74,0 ± 49	53,0 ± 3,09
θηλυκά	65,50 ± 3,21	67,0 ± 6,93	59,0 ± 4,5	55,0 ± 1,15

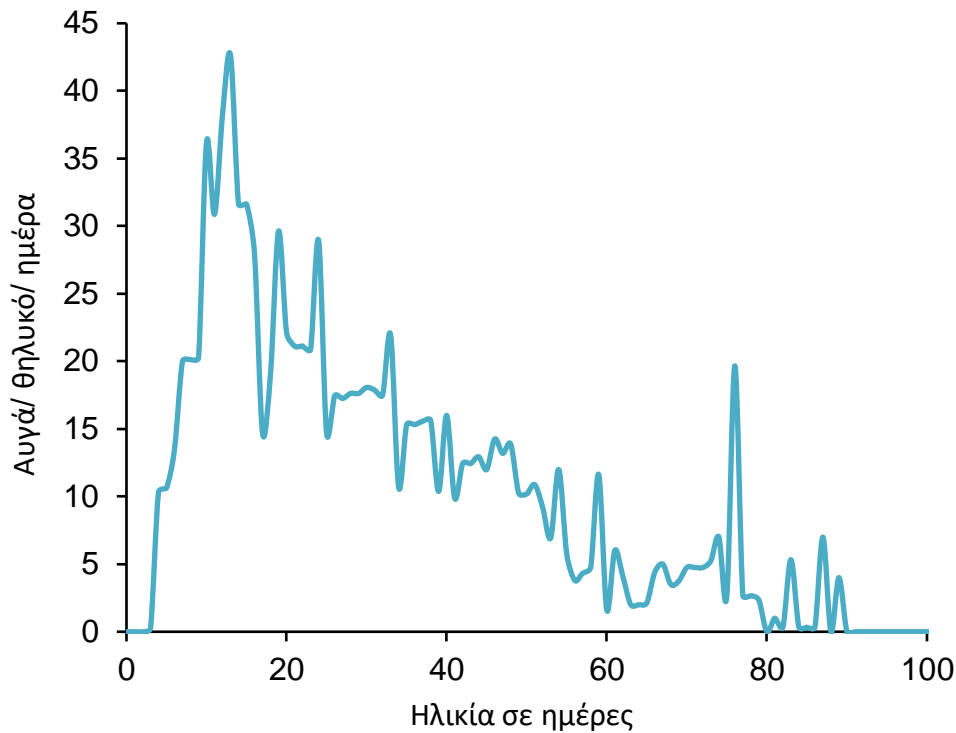


Διάγραμμα 6.1: Θηκόγραμμα αποτύπωσης της επιβίωσης αρσενικών (μπλε χρώμα) και θηλυκών (κόκκινο χρώμα), κατά την διάρκεια παραμονής τους στο LAM25system.



Διάγραμμα 6.2: Καμπύλες επιβίωσης αρσενικών (μπλε χρώμα) και θηλυκών (κόκκινο χρώμα), για όλη την διάρκεια διατήρησής τους στους σωλήνες του LAM25system.

Η μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών ανά ημέρα δίνεται στο Διάγραμμα 6.3. Η μέγιστη ωοπαραγωγή καταγράφηκε την 13^η ημέρα ζωής των θηλυκών με μέσο όρο 42,62 αυγά. Η πορεία της ωοπαραγωγής ακολούθησε γραμμική πτωτική πορεία από την ηλικία των 20 ημερών έως το τέλος της ζωής των θηλυκών. Η περίοδος της ζωής των θηλυκών που ωοτοκούσαν τα περισσότερα αυγά ήταν από την 9^η ημέρα μέχρι και την 17^η ημέρα. Ο μέσος αριθμός αυγών που ωοτοκήθηκαν από τα θηλυκά καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους ήταν $973,38 \pm 56,63$. Η διάρκεια των περιόδων πρωτοκίας, ωοτοκίας και μεταωοτοκίας σε ημέρες ήταν $(6,19 \pm 0,49)$, $(56,38 \pm 2,97)$ και $(2,94 \pm 0,88)$, αντίστοιχα.

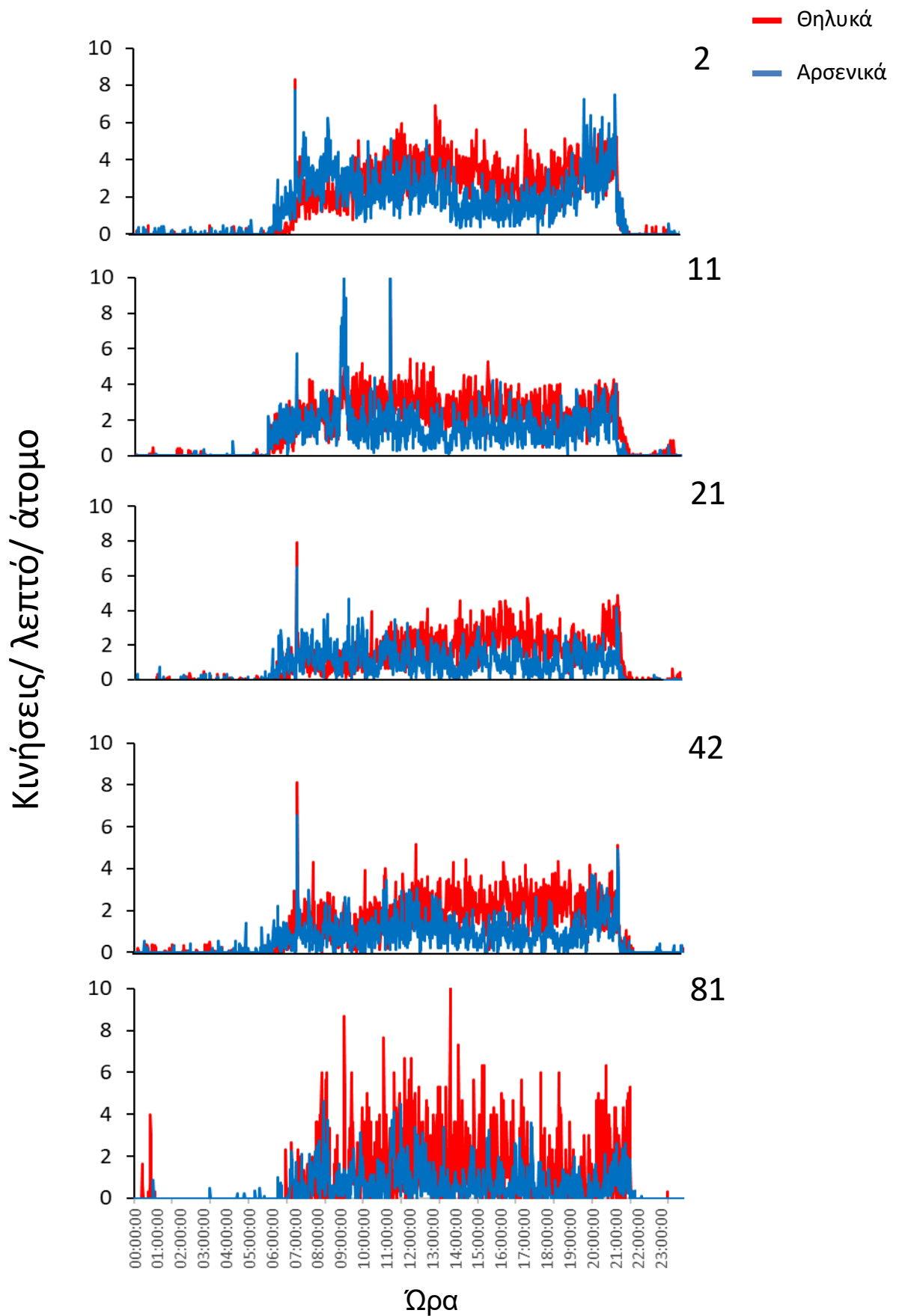


Διάγραμμα 6.3: Ωοπαραγωγή σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών που διατηρήθηκαν στο LAM25system.

Ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών

Στο Διάγραμμα 6.4 δίνεται η μέση δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών που διατηρούνταν ατομικά στους γυάλινους σωλήνες του LAM25system, ανά λεπτό για ένα 24ωρο στις ηλικίες 2, 11, 21, 42 και 81 ημερών. Η δραστηριότητα, ανεξαρτήτως φύλου και χρονικής στιγμής εντός του 24ώρου, μειώθηκε σε σχέση με τη την ηλικία (Wald $\chi^2 = 17904,18$, $df = 4$, $P < 0,001$). Τα θηλυκά ήταν περισσότερο δραστήρια σε σχέση με τα αρσενικά στο σύνολο του 24ώρου στις πέντε ηλικίες που ελέγχθηκαν (Wald $\chi^2 = 19654,67$, $df = 1$, $P < 0,001$). Αρσενικά και θηλυκά ήταν σημαντικά πιο δραστήρια κατά τη διάρκεια της ημέρας, δηλαδή από την έναρξη έως τη λήξη της φωτόφασης, και παρέμειναν σχεδόν ακίνητα κατά τη διάρκεια του σκότους (Wald $\chi^2 = 22.375,77$, $df = 1.439$, $P < 0,001$). Συγκεκριμένα, η δραστηριότητα ξεκινούσε περίπου στις 6:00:00, λίγο πριν την έναρξη της φωτόφασης (7:00:00) και σταματούσε περίπου στις 22:00:00 λίγο μετά την λήξη της (21:00:00). Στο παραπάνω διάστημα, η δραστηριότητα των ενηλίκων σπανίως παρέμενε σε μηδενικά επίπεδα. Και στα δύο φύλα για όλες τις ημέρες εκτός της 81ης, παρατηρήθηκε κατακόρυφη αύξηση της δραστηριότητας στο λεπτό εκκίνησης της φωτοπερίόδου.

Η αλληλεπίδραση της ημέρας (ηλικίας) και του φύλου ήταν σημαντική (Wald $\chi^2 = 22907,20$, $df = 9$, $P < 0,001$), καταδεικνύοντας ότι η μείωση της δραστηριότητας σε μεγαλύτερη ηλικία ήταν εντονότερη στα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά. Επίσης, το μοτίβο ημερήσιας δραστηριότητας κατά τη διάρκεια της φωτόφασης εμφάνισε κάποιες διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Στις ημέρες 2, 11, και 21 τα αρσενικά εκδήλωναν αυξημένη κίνηση τις πρώτες ώρες μετά την έναρξη της φωτόφασης (έως περίπου τις 10:00), η οποία ήταν παραπλήσια ή υψηλότερη από αυτή των θηλυκών. Παρόμοια τάση στα επίπεδα κίνησης των αρσενικών παρατηρήθηκε και την τελευταία ώρα πριν τη λήξη της φωτόφασης (20:00 – 21:00), ιδίως στις ηλικίες των 2, 11 και 42 ημερών. Κατά την υπόλοιπη διάρκεια της φωτόφασης, η δραστηριότητα των θηλυκών ήταν υψηλότερη σε σχέση με αυτή των αρσενικών (Διάγραμμα 6.4).

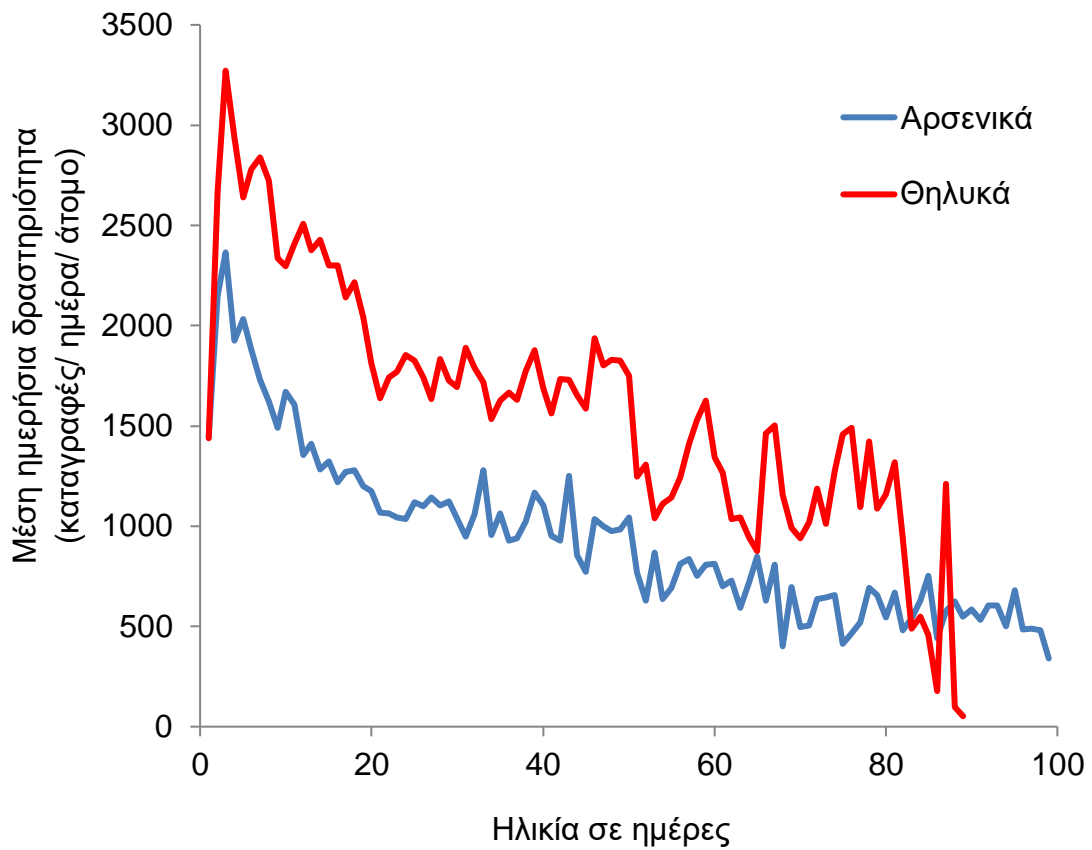


Διάγραμμα 6.4: Δραστηριότητα αρσενικών (μπλε γραμμή) και θηλυκών (κόκκινη γραμμή) κατά τη διάρκεια του 24ώρου στις ηλικίες 2, 11, 21, 42 και 81 ημερών. Η καταγραφή της κίνησης πραγματοποιούνταν κάθε λεπτό.

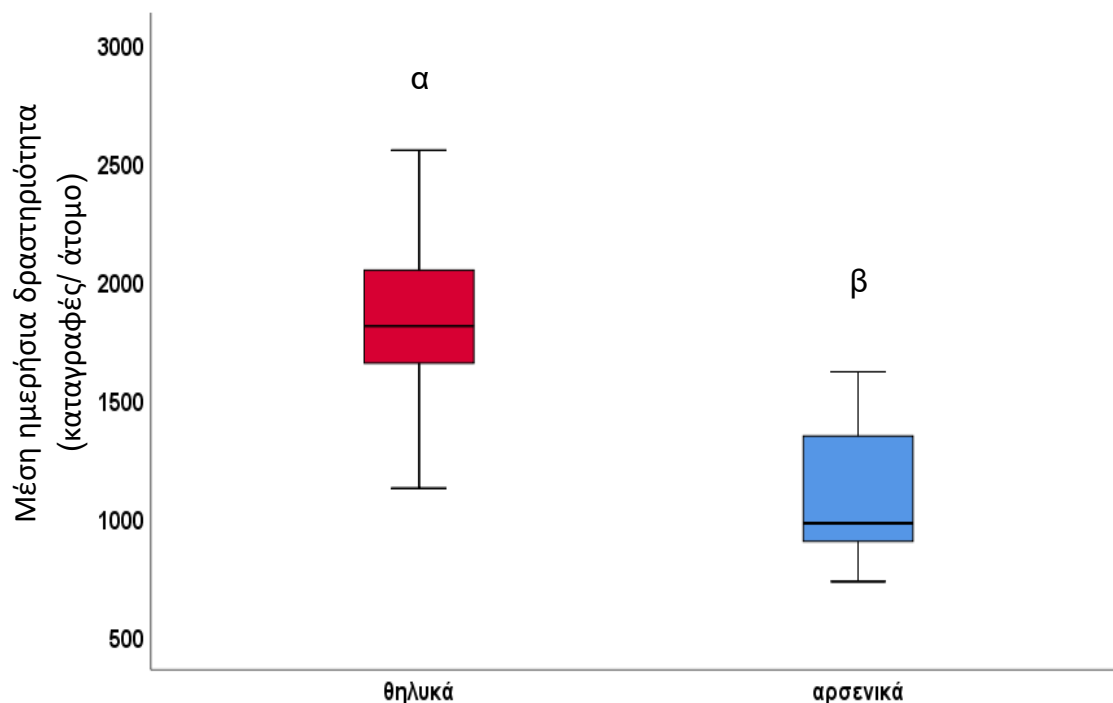
Δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών σε σχέση με την ηλικία

Στο Διάγραμμα 6.5 δίνεται η μέση ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών από την ηλικία μίας ημέρας έως την ηλικία 99 ημερών, από το σύνολο των κινήσεων που καταγράφονταν στα τρία monitor. Τα θηλυκά ήταν περισσότερο δραστήρια από τα αρσενικά, ανεξάρτητα από την ηλικία (Wald $\chi^2 = 43,14$, $df = 1$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 6.6). Η δραστηριότητα και των δύο φύλων μειώθηκε με την αύξηση της ηλικίας (Wald $\chi^2 = 357,37$, $df = 1$, $P < 0,001$). Οι μεταβολές της ημερήσιας δραστηριότητας σε σχέση με την ηλικία ήταν παραπλήσιες και στα δύο φύλα (Wald $\chi^2 = 0,004$, $df = 1$, $P = 0,948$).

Τα ενήλικα και των δύο φύλων ήταν πιο δραστήρια κατά το πρώτο εικοσαήμερο ζωής τους σε σχέση με την υπόλοιπη ζωή τους, με τα θηλυκά να πραγματοποιούν κατά μέσο όρο πάνω από 2.000 καταγραφές αθροιστικά και στα τρία μόνιτορ ανά ημέρα, και τα αρσενικά πάνω από 1.250 καταγραφές, αντίστοιχα. Το μέγιστο της ημερήσιας δραστηριότητας καταγράφηκε τη δεύτερη και τρίτη ημέρα της ζωής τους με 2666 και 2271 καταγεγραμμένες κινήσεις για τα αρσενικά και θηλυκά αντίστοιχα. Η ημερήσια δραστηριότητα μειωνόταν καθημερινά, από την 1^η ημέρα της ζωής τους έως και την 20^η. Από την ηλικία των 20 έως την ηλικία των 50 ημερών περίπου, οι καταγραφές κίνησης παρέμειναν σε σχετικά σταθερά επίπεδα, (2.000/ ημέρα και 1250/ημέρα για τα θηλυκά και τα αρσενικά αντίστοιχα). Μετά την ηλικία των 50 ημερών παρατηρήθηκε νέα σταδιακή μείωση της ημερήσιας δραστηριότητας αρσενικών και θηλυκών που συνεχίστηκε μέχρι την ηλικία των 99 ημερών.



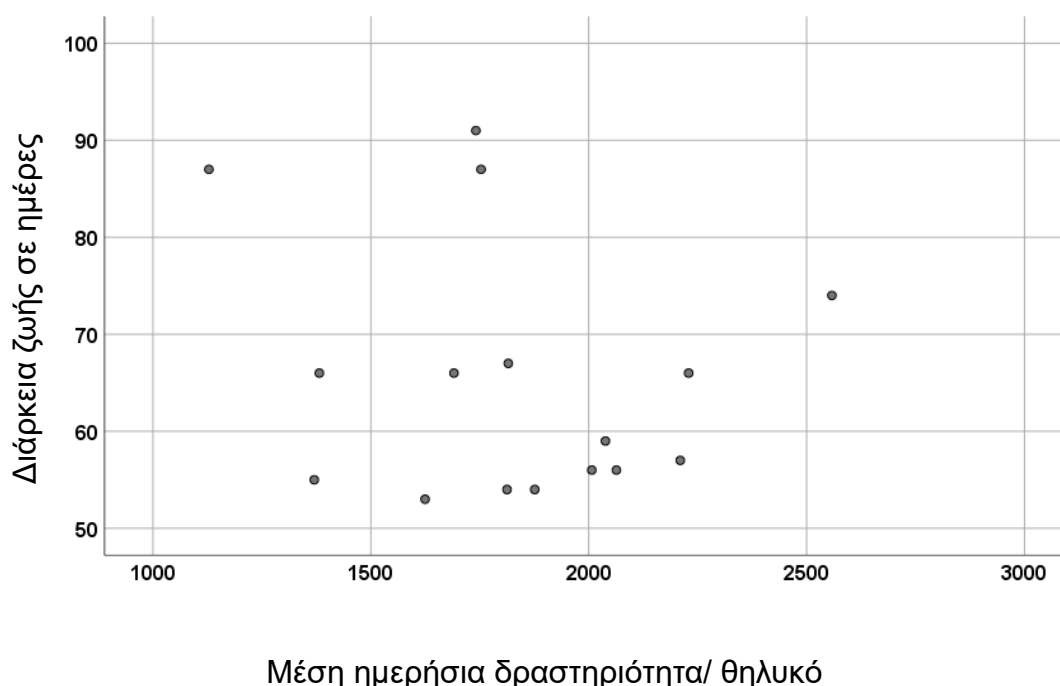
Διάγραμμα 6.5: Μέση ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών (μπλε χρώμα) και θηλυκών (κόκκινο χρώμα) για το σύνολο των παρατηρήσεων των τριών μόνιτορ, μέχρι τη ηλικία των 99 ημερών. Η μέση δραστηριότητα αφορά το σύνολο των καταγραφών του κάθε ατόμου στα τρία μόνιτορ στη διάρκεια του 24ώρου που διαιρέθηκε με τον αριθμό των ατόμων που επιβίωναν την κάθε ημέρα.



Διάγραμμα 6.6: Θηκόγραμμα της δραστηριότητας αρσενικών και θηλυκών για το σύνολο των παρατηρήσεων των τριών μόνιτορ καθ' όλη την διάρκεια ζωής τους. Για κάθε μόνιτορ υπολογίστηκε το άθροισμα των καταγραφών των τριών μόνιτορ για κάθε ημέρα. Έπειτα υπολογίστηκε η μέση ημερήσια δραστηριότητα διαιρώντας το άθροισμα των καταγραφών με το σύνολο των αρσενικών και θηλυκών που επιβίωσαν κάθε ημέρα έως την ηλικία των 99 ημερών. Με διαφορετικό γράμμα επισημαίνονται τα κυτία που διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά.

Σχέση δραστηριότητας και διάρκειας ζωής θηλυκών

Στο Διάγραμμα 6.7 δίνεται η μέση ημερήσια δραστηριότητα κάθε θηλυκού σε σχέση με τη διάρκεια ζωής του. Δε βρέθηκε κανενός είδους συσχέτιση (θετική ή αρνητική) ανάμεσα στα επίπεδα δραστηριότητας των θηλυκών και στη διάρκεια ζωής τους ($F = 0,625$, $df = 1,14$ $P = 0,442$). Το 50% των θηλυκών έζησε λιγότερο από 60 ημέρες και είχε καταγεγραμμένες κινήσεις που κυμάνθηκαν από 1400 καταγραφές έως και 2300 ανά άτομο. Το υπόλοιπο 50% των θηλυκών έζησε πάνω από 60 ημέρες και παρουσίασε παρόμοια ποσοστά καταγραφής κινήσεων. Εξαίρεση αποτελούν, δύο θηλυκά, εκ των οποίων το ένα έζησε πάνω από 80 ημέρες αλλά είχε τη χαμηλότερη ημερήσια δραστηριότητα με περίπου 1200 καταγραφές κίνησης συνολικά, και το δεύτερο έζησε πάνω από 70 ημέρες και είχε την υψηλότερη ημερήσια δραστηριότητα με πάνω από 2500 καταγραφές κίνησης. Στην περίπτωση των αρσενικών, δεν πραγματοποιήθηκε προσπάθεια συσχέτισης της διάρκειας ζωής με τη δραστηριότητά τους, καθώς οι καταγραφές κίνησης διακόπηκαν την ημέρα 99, διάστημα κατά το οποίο επιβίωναν ακόμη οχτώ αρσενικά.



Διάγραμμα 6.7: Συσχέτιση της διάρκειας ζωής των θηλυκών σε σχέση με τη μέση ημερήσια δραστηριότητα, για το σύνολο των καταγραφών των τριών μόνιτορ για όλη την διάρκεια ζωής τους.

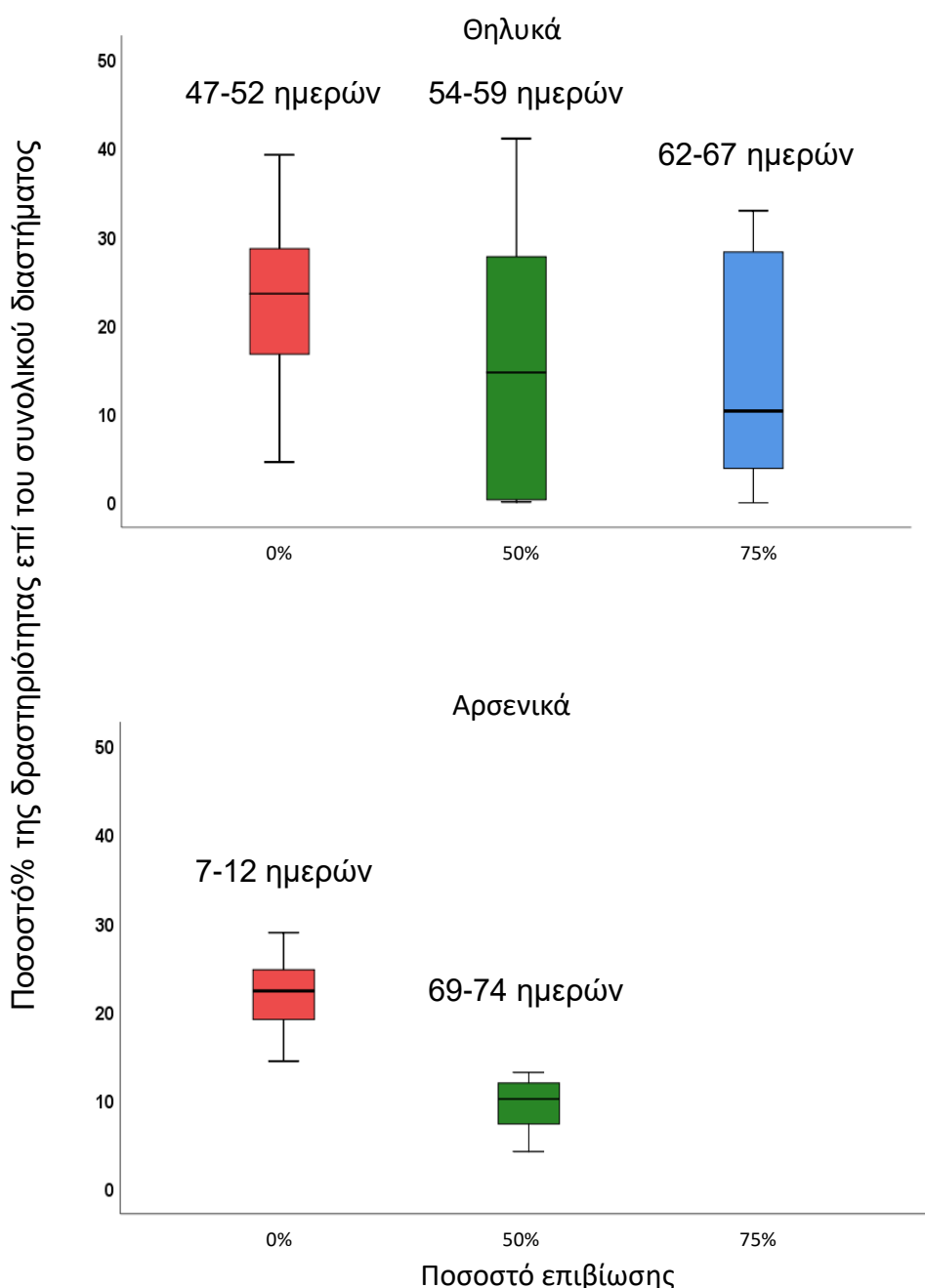
Σχέση της ηλικίας και της θνησιμότητας με την δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου

Το ποσοστό του συνολικού χρονικού διαστήματος που τα αρσενικά και θηλυκά ήταν δραστήρια, από το σύνολο των λεπτών που περιλαμβάνονται στις 6 ημέρες της κάθε ηλικιακής κλάσης, υπολογίστηκε με βάση το 0%, 50% και 75% της θνησιμότητας της κοορτής. Οι υπολογισμοί πραγματοποιήθηκαν για διαστήματα έξι ημερών κατά τα οποία το ποσοστό της θνησιμότητας των ατόμων παρέμενε σταθερό (Θηλυκά: ημέρες 47 έως 52 με 0% θνησιμότητα, 54 έως 59 με 50% θνησιμότητα και 62 έως 67 με 75% θνησιμότητα. Αρσενικά: ημέρες 7 έως 12 με 0% θνησιμότητα και 69 έως 74 με 50% θνησιμότητα). Στην περίπτωση των αρσενικών, δεν ήταν δυνατόν να υπολογιστεί το ποσοστό του χρόνου εκδήλωσης δραστηριότητας όταν η θνησιμότητα έφτασε το 75% καθότι η καταγραφή των κινήσεων διακόπηκε την 99^η ημέρα, πριν το θάνατο του 75% των αρσενικών (Διάγραμμα 6.8).

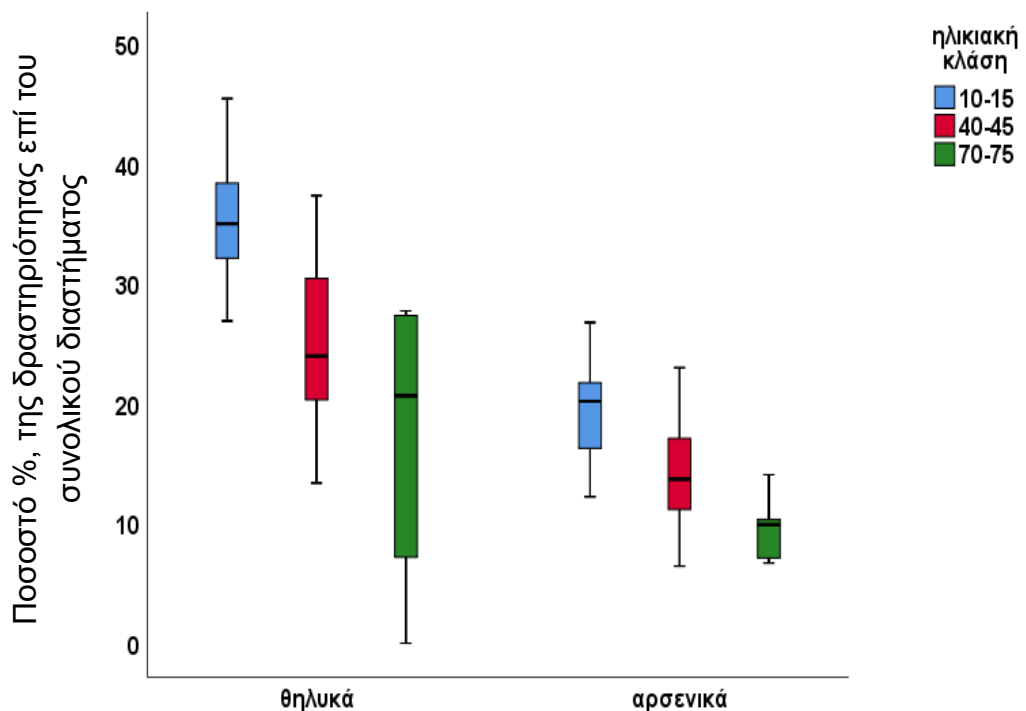
Το ποσοστό του χρόνου κατά τον οποίο εκδηλωνόταν δραστηριότητα μειώθηκε σε σχέση με την ηλικία, ανεξάρτητα από το φύλο (Wald $\chi^2 = 17,836$, $df = 4$, $P < 0,05$), ενώ δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ αρσενικών και θηλυκών (Wald $\chi^2 = 0,123$, $df = 1$, $P = 0,726$). Όταν οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστά για κάθε φύλο, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα αρσενικά μείωσαν σημαντικά το χρόνο που πραγματοποιούσαν δραστηριότητας σε μεγαλύτερη ηλικία (Wald $\chi^2 = 71,762$, $df = 1$, $P < 0,001$). Ωστόσο, δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές στο ποσοστό του χρόνου εκδήλωσης δραστηριότητας μεταξύ των τριών ηλικιακών κλάσεων στα θηλυκά (Wald $\chi^2 = 4,26$, $df = 2$, $P = 0,119$) (Διάγραμμα 6.8).

Επιπλέον, το ποσοστό του συνολικού χρονικού διαστήματος που τα αρσενικά και θηλυκά ήταν δραστήρια από το σύνολο των λεπτών που περιλαμβάνονται στις 6 ημέρες της κάθε ηλικιακής κλάσης, υπολογίστηκε για τρεις κοινές ηλικιακές κλάσεις (νεαρά 10-15 ημερών, μέσης ηλικίας 40-45 ημερών και προχωρημένης ηλικίας 70-75 ημερών). Στην περίπτωση αυτή δεν λήφθηκε υπόψη το ποσοστό των ενηλίκων που επιβίωναν σε καθεμία από τις ηλικιακές κλάσεις. Οι ηλικιακές κλάσεις που επιλέχθηκαν απείχαν μεταξύ τους ίσα χρονικά διαστήματα (25 ημέρες). Όπως και στην περίπτωση διαχωρισμού ηλικιακών κλάσεων με βάση το ποσοστό θνησιμότητας των ενηλίκων, έτσι και στην περίπτωση επιλογής αυθαίρετων ηλικιακών κλάσεων, το ποσοστό του χρόνου που τα ενήλικα πραγματοποιούσαν δραστηριότητα μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με την ηλικία και στα δύο φύλα (Wald $\chi^2 = 33,482$, $df = 2$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 6.9). Επιπλέον στα θηλυκά ο χρόνος δραστηριότητας ήταν σημαντικά μεγαλύτερος σε σχέση με τα αρσενικά (Wald $\chi^2 = 47,934$, $df = 1$, $P < 0,001$). Τα θηλυκά της μέσης ηλικίας (40-45 ημερών) φαίνεται πως υπερτερούσαν στο χρόνο εκδήλωσης κίνησης σε σχέση με τα αρσενικά και

των τριών ηλικιακών κλάσεων. Η αλληλεπίδραση της ηλικίας και του φύλου δεν ήταν σημαντική (Wald $\chi^2 = 3,032$, $df = 2$, $P = 0,220$), καθώς το ποσοστό του χρόνου εκδήλωσης δραστηριότητας μειώθηκε με παραπλήσιο τρόπο σε αρσενικά και θηλυκά.



Διάγραμμα 6.8: Θηκόγραμμα του ποσοστού του συνολικού χρονικού διαστήματος κατά το οποίο αρσενικά και θηλυκά ήταν δραστήρια. Το συνολικό χρονικό διάστημα που εκδηλώθηκε δραστηριότητα υπολογίστηκε από τον μέσο όρο του συνόλου των λεπτών που τα ενήλικα ήταν δραστήρια δια του συνόλου των λεπτών που περιέχονται στις 6 ημέρες των ηλικιακών κλάσεων. Για τα θηλυκά υπολογίστηκαν τρεις εξαήμερες ηλικιακές κλάσεις με βάση το 0, 50 και 75% της θνησιμότητας. Για τα αρσενικά υπολογίστηκαν δύο ηλικιακές κλάσεις με βάση το 0, και 50% της θνησιμότητας της κοορτής καθώς μέχρι την 99 ημέρα δεν είχε επέλθει θνησιμότητα 75%.

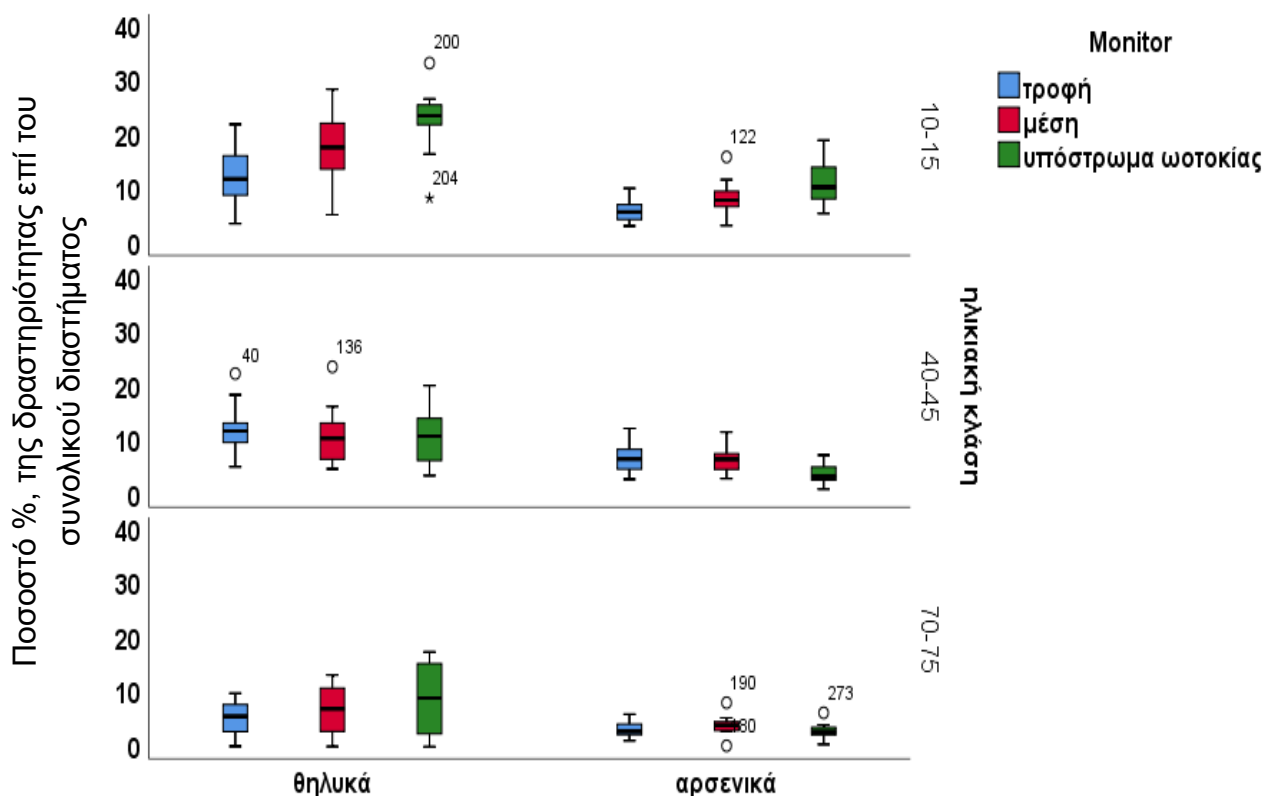


Διάγραμμα 6.9: Θηκόγραμμα του συνολικού χρονικού διαστήματος κατά το οποίο αρσενικά και θηλυκά ήταν δραστήρια. Το συνολικό χρονικό διάστημα που εκδηλώθηκε δραστηριότητα υπολογίστηκε από τον μέσο όρο του συνόλου των λεπτών που τα ενήλικα ήταν δραστήρια δια του συνόλου των λεπτών που περιέχονται στις 6 ημέρες των ηλικιακών κλάσεων. Οι ηλικιακές κλάσεις είναι κοινές και για τα δύο φύλα αποτελούμενες από τρία διαστήματα των 6 ημερών (10-15, 40-45, 70-75).

Ο επιμερισμός του χρόνου δραστηριότητας στα τρία μόνιτορ ξεχωριστά (τροφή, μέση και υπόστρωμα ωτοκίας) δίνεται στο Διάγραμμα 6.10. Παρά το γεγονός ότι στα νεαρά θηλυκά και αρσενικά υπήρξε μια τάση υψηλότερης επισκεψιμότητας του υποστρώματος ωτοκίας/ εξαερισμού, το μόνιτορ ως παράγοντας παραλλακτικότητας δεν απέδωσε σημαντικές διαφορές στο ποσοστό του χρόνου εκδήλωσης δραστηριότητας, ανεξάρτητα από το φύλο και την ηλικιακή κλάση (Wald $\chi^2 = 5,759$, $df = 2$, $P = 0,056$). Τα νεαρά ενήλικα εμφάνισαν υψηλότερα ποσοστά καταγραφών δραστηριότητας σε σύγκριση με τα ενήλικα των άλλων δύο ηλικιακών κλάσεων (Wald $\chi^2 = 69,107$, $df = 2$, $P < 0,001$). Ακόμη, τα θηλυκά κατέγραψαν σημαντικά υψηλότερα ποσοστά δραστηριότητας σε σύγκριση με τα αρσενικά ανεξαρτήτως μόνιτορ και κλάσης (Wald $\chi^2 = 96,529$, $df = 1$, $P < 0,001$). Η αλληλεπίδραση του φύλου με την ηλικιακή κλάση ήταν σημαντική, καθώς η μείωση του χρόνου εκδήλωσης δραστηριότητας μειώθηκε εντονότερα στα θηλυκά σε σχέση με τα αρσενικά (Wald $\chi^2 = 16,313$, $df = 2$, $P < 0,001$).

Τα νεαρά και μέσης ηλικίας θηλυκά παρουσίασαν παρόμοια ποσοστά δραστηριότητας στο μόνιτορ της τροφής ενώ τα γηραιότερα αφιέρωναν μικρότερο ποσοστό του χρόνου τους στο ίδιο σημείο. Στο μόνιτορ με το υπόστρωμα ωτοκίας, τα νεαρά θηλυκά ήταν σαφώς πιο δραστήρια σε σύγκριση με τα αντίστοιχα των άλλων δύο ηλικιακών κλάσεων. Η στατιστική ανάλυση επιβεβαίωσε, ότι τα νεαρά θηλυκά πραγματοποίησαν υψηλότερα ποσοστά καταγραφών στην ηλικιακή κλάση 10-15 ημερών (Wald $\chi^2 = 45,985$, $df = 2$, $P < 0,001$), και στο μόνιτορ που ήταν κοντά στο σημείο εναπόθεσης των αυγών (Wald $\chi^2 = 7,581$, $df = 2$, $P < 0,05$), σε σύγκριση με τα ομόλογά τους στις άλλες δύο ηλικιακές κλάσεις και στο μόνιτορ που υπήρχε η τροφή. Τα μέσης ηλικίας θηλυκά, είχαν διαφορές μεταξύ των μόνιτορ, ενώ τα γηραιότερα επίσης πραγματοποιούσαν το μεγαλύτερο ποσοστό στο ίδιο μόνιτορ με τα νεαρά αφού η αλληλεπίδραση του μόνιτορ με την ηλικιακή κλάση απέδωσε σημαντικές διαφορές (Wald $\chi^2 = 95,783$, $df = 8$, $P < 0,001$).

Τα αρσενικά της ηλικιακής κλάσης 10-15 παρουσίασαν υψηλότερο ποσοστό του χρόνου τους, στο μόνιτορ του υποστρώματος ωτοκίας και μικρότερο χρόνο σε αυτό της τροφής. Το αντίθετο συνέβη στα μέσης ηλικίας αρσενικά των 40-45 ημερών, όπου το μεγαλύτερο ποσοστό καταγράφηκε στο μόνιτορ της τροφής. Η δραστηριότητα των αρσενικών ηλικίας 70-75 ημερών δεν διέφερε μεταξύ των τριών μόνιτορ (Wald $\chi^2 = 1,648$, $df = 2$, $P = 0,439$).



Διάγραμμα 6.10: Θηκόγραμμα του συνολικού χρονικού διαστήματος κατά το οποίο αρσενικά και θηλυκά εκδήλωσαν δραστηριότητα, στα τρία μόνιτορ (τροφή-μέση-υπόστρωμα ωτοκίας) ξεχωριστά. Το συνολικό χρονικό διάστημα που εκδηλώθηκε δραστηριότητα υπολογίστηκε από τον μέσο όρο του συνόλου των λεπτών που τα ενήλικα ήταν δραστήρια δια του συνόλου των λεπτών που περιέχονται στις 6 ημέρες των ηλικιακών κλάσεων. Οι ηλικιακές κλάσεις είναι τρία κοινά διαστήματα των 6 ημερών (10-15, 40-45, 70-75) και για τα δύο φύλα.

6.5. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν ότι τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών και ότι τα θηλυκά καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους ήταν περισσότερο δραστήρια από τα αρσενικά. Η δραστηριότητα και των δύο φύλων μειώθηκε με την αύξηση της ηλικίας. Θηλυκά και αρσενικά νεαρής ηλικίας έδειξαν προτίμηση εκδήλωσης δραστηριότητας κοντά στο άκρο του γυάλινου σωλήνα που έφερε την οργαντίνα. Οι διαφορές στα επίπεδα εκδήλωσης κίνησης μεταξύ των διαφορετικών σημείων του σωλήνα (monitor), μειώθηκαν σε μεγαλύτερες ηλικίες και στα δύο φύλα.

Όπως και στα αποτελέσματα των προηγούμενων Κεφαλαίων της παρούσας διατριβής, τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών, καθώς ο ρυθμός θνησιμότητας των θηλυκών αυξήθηκε ραγδαία μετά την 50^η ημέρα. Επιπλέον, σε "ιδανικές" συνθήκες διατήρησης τα αρσενικά εμφανίζονται μακροβιότερα των θηλυκών στις πλείστες των περιπτώσεων άλλων μελετών (Carey, 2002b; 1984; 2011; Papadopoulos, 2002; Diamantidis et al. 2009; Muller et al., 1997; Placido- Silva et al., 2006). Όπως προαναφέρθηκε, στα

Κεφάλαια 4 και 5, τα αρσενικά εκτός του μικρότερου κόστους αναπαραγωγής που επιδρά σημαντικότερα στην επιβίωση των θηλυκών, παρουσιάζουν και διαφορετικά μοτίβα συμπεριφοράς κατά την διάρκεια της ημέρας. Η συμπεριφορά που πραγματοποιούν σε μεγαλύτερη συχνότητα και διάρκεια μέσα στο 24ωρο είναι το σεξουαλικό κάλεσμα. Κατά την διάρκεια αυτού το έντομο παραμένει ακίνητο σε σταθερή θέση. Η συγκεκριμένη συμπεριφορά αποτελεί δείκτη μακροβιότητας και δεν επιδρά αρνητικά στην επιβίωση τους (Παπαναστασίου, 2014; Papadopoulos et al., 2004; 2010; Yuval et al., 1998; Warburg and Yuval, 1997).

Τα νεαρά θηλυκά (9^η-17^η ημέρα) ωτοόκησαν περισσότερα αυγά, ενώ από την 35^η ημέρα και έπειτα ο ρυθμός ωτοκίας μειωνόταν με το πέρασμα των ημερών. Η χαμηλότερη ωτοπαραγωγή καταγράφηκε από τα γηραιότερα θηλυκά. Παρόμοιο μοτίβο παρουσιάστηκε στην μέση ημερήσια ωτοπαραγωγή των θηλυκών και στα πειράματα των Κεφαλαίων 4 και 5, όπου η τροφή και το μέσο διατήρησης ήταν το ίδιο. Σύμφωνα με τα μοντέλα των Novoseltsev et al. (2004) και Muller et al. (2001), σε επίπεδο κοορτής, μετά την μέγιστη ωτοπαραγωγή, ο ρυθμός ωτοπαραγωγής μειώνεται ραγδαία και επέρχεται η σταδιακή θνησιμότητα των θηλυκών. Τα νερά θηλυκά σε τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, επενδύουν την ενέργειά τους στην ωτοπαραγωγή και τα γηραιότερα μετριάζουν τα επίπεδα ωτοπαραγωγής, επενδύοντας και στην επιβίωση (Papanastasiou et al., 2013). Τα γηραιότερα άτομα όμως, φέρουν εξασθενημένο μεταβολισμό και προτεραιότητα επένδυσης θρεπτικών δεν παύει να αποτελεί γι αυτά, η αναπαραγωγή με κάθε κόστος (Nestel et al., 2005). Στην παρούσα πειραματική διαδικασία τα θηλυκά στις πορσωρημένες ηλικίες εμφάνισαν χαμηλή δραστηριότητα και ωτοπαραγωγή, αποδεικνύοντας όπως και στις προαναφερθείσες μελέτες, την στοχευμένη επένδυση ενέργειας από τα θηλυκά στις μεγαλύτερες ηλικίες στην επιβίωση και την ωτοπαραγωγή.

Στις νεαρές ηλικίες (πρώτο 20ήμερο) παρατηρήθηκαν τα υψηλότερα ποσοστά δραστηριότητας και για τα δύο φύλα, κατά την διάρκεια παραμονής τους στο LAM25system. Το μοτίβο μείωσης της δραστηριότητας σε σχέση με την αύξηση της ηλικίας, ήταν παρόμοιο για τα αρσενικά και τα θηλυκά, ενώ τα γηραιότερα άτομα παρουσίασαν τις λιγότερες καταγραφές. Προοδευτική μείωση της καθημερινής δραστηριότητας με την αύξηση της ηλικίας παρατηρήθηκε και σε άλλες μελέτες στην μύγα της Μεσογείου (Παπαναστασίου 2014; Papadopoulos et al., 2002; 2004; Carey et al., 2006), στο είδος *A. ludens* (Zou et al., 2011) και στο είδος *D. melanogaster* (Simon et al., 2006; Iliadi and Boulianne 2010; Ratliff et al., 2015). Η συχνότητες βάδισης, πτήσης και διατροφής είναι υψηλότερες σε νεαρές ηλικίες στην μύγα της Μεσογείου και της *D. melanogaster*, σε αντίθεση με τις συμπεριφορές αδράνειας (ξεκούρασης- resting) και περιποίησης (grooming) που παραμένουν στα ίδια επίπεδα παρά την γήρανση (Carey et al., 2006). Σύμφωνα με τους Bochicchio et al. (2017) και πηγές που αναφέρουν, η

γήρανση συνδέεται άμεσα με την προοδευτική μείωση της δραστηριότητας και της έκφρασης κινητικής δραστηριότητας που αποτελούν δείκτες της λειτουργικής κατάστασης του εντόμου. Η γήρανση συνεπάγεται μια προοδευτική επιδείνωση της ικανότητας συντήρησης της ομοιόστασης, του μεταβολισμού και των φυσιολογικών λειτουργιών σε υψηλά επίπεδα (Togoser et al., 2007). Η μελέτη της λειτουργικής επιδείνωσης σε σχέση με την ηλικία, εντοπίζει βασικά οργανικά συστήματα που αποτυγχάνουν να λειτουργήσουν ικανοποιητικά στις μεγαλύτερες ηλικίες (Grotewiel et al., 2005). Το μυϊκό σύστημα των ενηλίκων της *D. melanogaster*, αποδείχθηκε ασθενέστερο στις μεγαλύτερες ηλικίες (Girardot et al., 2006). Επίσης η σωστή λειτουργία του μεταβολισμού, σε συνδυασμό με τα επίπεδα λιπιδίων και ντοπαμίνης, μειώθηκαν σταδιακά στα γηραιότερα άτομα του *D. melanogaster* (Vermeulen et al., 2006). Η υπεροξειδωση των λιπιδίων και οι αλλαγές στα επίπεδα ντοπαμίνης παρουσιάζουν άμεση συσχέτιση με την κινητική δραστηριότητα που επίσης μειώνεται με την γήρανση (Vermeulen et al., 2006; Pujol-Lereis et al., 2012). Στις προχωρημένες ηλικίες των εντόμων, η συσσώρευση των μεταλλάξεων και η μείωση αντικατάστασης των εκφυλισμένων κυττάρων, προκαλεί σταδιακή ύφεση στην συχνότητα εκδήλωσης καθημερινών δραστηριοτήτων και αποτελεί εφελκυστήριο για την έναρξη εκδήλωσης νέων, όπως η ύπνια συμπεριφορά (Παπαναστασίου, 2014; Rakshit et al., 2012; Papadopoulos et al., 2002).

Μεταξύ των δύο φύλων, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην ημερήσια δραστηριότητα. Τα θηλυκά ήταν περισσότερο δραστήρια από τα αρσενικά καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους. Χαρακτηριστικά, οι καταγραφές των μέσης ηλικίας θηλυκών ξεπερνούσαν ακόμη και αυτές των νεαρών αρσενικών. Σύμφωνα με τους Warburg and Yuval (1997), τα ποσοστά λιπιδίων στα θηλυκά καθ' όλη την διάρκεια της ημέρας είναι υψηλότερα, που όπως προαναφέρθηκε παρουσιάζουν άμεση συσχέτιση με την κινητική δραστηριότητα, σε σύγκριση με τα αρσενικά. Στην μελέτη της Παπαναστασίου (2014), εκτιμήθηκε η συχνότητα εκδήλωσης καθημερινών συμπεριφορών και για τα δύο φύλα της μύγας της Μεσογείου, καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους. Τα αρσενικά αποδείχθηκαν περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά σε όλο το φάσμα των ηλικιών. Η έκφραση σεξουαλικού καλέσματος αποτελούσε την κατά κόρον συμπεριφορά που πραγματοποιούσαν τα αρσενικά και καταγραφόταν με οπτική παρατήρηση. Κατά την διάρκεια του σεξουαλικού καλέσματος τα αρσενικά παραμένουν ακίνητα. Η καθημερινή κινητική δραστηριότητα της μελέτης του παρόντος Κεφαλαίου καταγράφονταν από το ηλεκτρονικό σύστημα LAM25system, με αποτέλεσμα, τις χρονικές περιόδους που τα αρσενικά πραγματοποιούσαν σεξουαλικό κάλεσμα και παρέμεναν ακίνητα, να μην υπήρχαν καταγραφές. Πιθανότατα οι διαφορές της παρούσας μελέτης με την αντίστοιχη της Παπαναστασίου (2014), να αποδίδονται στην συχνότητα έκφρασης του σεξουαλικού καλέσματος. Επίσης στην προαναφερθείσα μελέτη στα θηλυκά δεν παρέχονταν υπόστρωμα ωτοκίας

με αποτέλεσμα να μην καταγράφονται οι προσπάθειες ωτοκίας τους, ενώ στην παρούσα διατριβή τα θηλυκά ωτοκούσαν στο υπόστρωμα οργανίνης, στο οποίο δίπλα υπήρχε μόνιτορ καταγραφής. Σε άλλα Δίπτερα, τα αρσενικά του είδους *B. tryoni*, ήταν από τα θηλυκά σε μελέτη μικρού χρονικού διαστήματος που χρησιμοποιήθηκε το LAM25system, όπου επίσης δεν υπήρχε υπόστρωμα ωτοκίας (Fanson et al., 2013). Επίσης, μεγαλύτερη ήταν η μείωση της ημερήσιας δραστηριότητας των θηλυκών στο είδος *D. melanogaster* σε σύγκριση με τα αρσενικά στις προχωρημένες ηλικίες (Ratliff et al., 2015).

Στα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά καταγραφής δραστηριότητας του κάθε μόνιτορ, ανάλογα την ηλικία και το φύλο. Πιο συγκεκριμένα, τα νεαρής ηλικίας θηλυκά και αρσενικά παρουσίασαν τα υψηλότερα ποσοστά δραστηριότητας στο μόνιτορ που υπήρχε κοντά το υπόστρωμα ωτοκίας. Πιθανότατα, από τον συνδυασμό της ημερήσιας δραστηριότητας των νεαρών θηλυκών, με την ημερήσια ωτοπαραγωγή τους, συμπεραίνεται ότι τα νεαρά θηλυκά σε τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, επενδύουν τον περισσότερο χρόνο της καθημερινότητάς τους στην ωτοπαραγωγή και λιγότερο στην τροφή. Τα ποσοστά καταγραφής στα τρία μόνιτορ μετριάζονται στην μέση ηλικία όταν και ο ρυθμός ωτοκίας έχει πέσει περίπου στα 16 αυγά/ ημέρα. Στα γηραιότερα άτομα, η υψηλότερη δραστηριότητα στο μόνιτορ με το υπόστρωμα ωτοκίας επαναλαμβάνεται, αποδεικνύοντας ότι η κυριότερη δραστηριότητα των θηλυκών στις προχωρημένες ηλικίες ήταν επίσης η εναπόθεση των αυγών. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με το μοντέλο των Muller et al. (2001), που αναφέρεται στους ρυθμούς ωτοπαραγωγής σε σχέση με την ηλικία. Στα νεαρά άτομα παρουσιάζεται η μέγιστη ωτοπαραγωγή η οποία φθίνει σταδιακά με την αύξηση της ηλικίας και της θνησιμότητας. Όμως, στις μεγαλύτερες ηλικίες επενδύεται η περισσότερη ενέργεια στην αναπαραγωγή.

Τα ποσοστά της ημερήσιας κινητικής δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου συσχετίστηκαν με την ωτοπαραγωγή και την ηλικία στο παρών Κεφάλαιο. Η στοχευμένη επίδραση των θρεπτικών συστατικών, του νερού και των περιβαλλοντικών συνθηκών, στην καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων για όλο το φάσμα των ηλικιών τους, κρίνεται απαραίτητο να μελετηθεί για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων.

Κεφάλαιο 7. Γενικά συμπεράσματα

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η συσχέτιση της ημερήσιας δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου με την ηλικία και την ωοπαραγωγή τους χρησιμοποιώντας το ηλεκτρονικό σύστημα καταγραφής LAM25system (Trikinetics). Η ανάγκη για διατήρηση των εντόμων στους γυάλινους σωλήνες του συστήματος, για όλη την διάρκεια της ζωής τους, οδήγησε στην εφαρμογή μιας τροφής με ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό από γέλη με βάση το άγαρ, που παρείχε ταυτόχρονα στο έντομο θρεπτικά και νερό. Η συγκεκριμένη γέλη αρχικά συγκρίθηκε με την τροφή υγρής μορφής και με την παροχή νερού από φιαλίδιο, με στόχο την παρατήρηση της ικανότητάς της να καλύπτει τις ανάγκες των ενηλίκων σε νερό (Κεφάλαιο 3). Στην συνέχεια αξιολογήθηκε η επίδραση του μέσου διατήρησης ενηλίκων στα δημογραφικά χαρακτηριστικά τους, σε συνδυασμό με την τροφή που εφαρμόστηκε. Στους σωλήνες του LAM25system εφαρμόστηκε η τροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε γέλη από άγαρ, και στα ατομικά κλουβιά δημογραφίας η κλασική διαίτα των ενηλίκων που περιείχε ζάχαρη, θρεπτικά, πρωτεΐνη και νερό (Κεφάλαιο 4). Στο Κεφάλαιο 5, αξιολογήθηκε η διατηρησιμότητα της τροφής από γέλη με βάση το άγαρ, που χρησιμοποιήθηκε στους γυάλινους σωλήνες με βάση την επίδραση που είχε η αλλαγή της γέλης, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα, στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων. Τέλος, στο Κεφάλαιο 6 χρησιμοποιήθηκε το σύστημα LAM25system (Trikinetics) για την καταγραφή της ημερήσια δραστηριότητας των ενηλίκων για όλη την διάρκεια της ζωής τους. Η δραστηριότητα συσχετίστηκε με την ηλικία και την ωοπαραγωγή και η τροφή που εφαρμόστηκε ήταν η γέλη με βάση το άγαρ που περιείχε ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό.

Η τροφή από γέλη με βάση το άγαρ, με ζάχαρη, πρωτεΐνη και νερό, κρίθηκε ικανή να υπερκαλύψει της καθημερινές ανάγκες των εντόμων σε τροφή και νερό. Τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα των θηλυκών σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες που διατηρούνταν ατομικά (Κεφάλαια 4,5 και 6), επιβεβαιώνοντας την άμεση συσχέτιση της επιβίωσης των θηλυκών, με το κόστος αναπαραγωγής. Η διαφορά δεν παρατηρήθηκε στο πείραμα του Κεφαλαίου 3 και ίσως αυτό να ωφελείται στις κοινωνικές αλληλεπιδράσεις των εντόμων καθώς διατηρήθηκαν ανά 20 (10 αρσενικά και 10 θηλυκά) σε κάθε κλουβί. Φαίνεται πως οι κοινωνικές αλληλεπιδράσεις, μεταξύ του ίδιου και του αντίθετου φύλου, επηρέασαν την συνολική διάρκεια επιβίωσης. Τα ενήλικα που διατηρούνται παρθένα καθ' όλη την διάρκεια της ζωής τους, ζούνε περισσότερο ανεξαρτήτως φύλου (Papadopoulos et al., 2010; Chapman et al., 1998). Η επιβίωση και η ωοπαραγωγή των θηλυκών επηρεάστηκαν από την τροφή που εφαρμόστηκε σε κάθε πειραματική διαδικασία. Στο Κεφάλαιο 4, η τροφή σε γέλη από άγαρ με ζάχαρη και πρωτεΐνη, σε συνδυασμό με την εφαρμογή της στους γυάλινους σωλήνες, μείωσε την περίοδο προωτοκίας σε σύγκριση με τα θηλυκά στα ατομικά κλουβιά. Ακόμη, αύξησε την περίοδο

ωοτοκίας, την μέση και την συνολική ωοπαραγωγή, ενώ επέκτεινε την επιβίωση. Στο Κεφάλαιο 5, η αύξηση του χρονικού διαστήματος αλλαγής της τροφής, μείωσε την συνολική και μέση ωοπαραγωγή αλλά αύξησε την επιβίωση των θηλυκών. Τα ενήλικα θηλυκά σε συνθήκες υδατικής καταπόνησης μετρίαζαν την ημερήσια επένδυση της ενέργειάς τους, ανάμεσα στην επιβίωση και την ωοπαραγωγή. Αντίθετα, στα αρσενικά η επιβίωση μειώθηκε με την αύξηση του χρονικού διαστήματος αλλαγής της τροφής. Το νερό αποτέλεσε απαραίτητο θρεπτικό συστατικό σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες, στην καθημερινή δίαιτα των ενηλίκων, ώστε να αποφεύγεται η διατροφική και υδατική τους καταπόνηση. Η ωοπαραγωγή σε όλες της μεταχειρίσεις όλων των πειραμάτων, μειώθηκε στις μεγάλες ηλικίες. Στο Κεφάλαιο 6, η δραστηριότητα των ενηλίκων μειώθηκε με την αύξηση της ηλικίας. Τα θηλυκά υπερερούσαν στα επίπεδα ημερήσιας δραστηριότητας των αρσενικών, σε όλη την διάρκεια της ζωής τους. Τα νεαρά θηλυκά ήταν περισσότερο δραστήρια από τα γηραιότερα. Στο ίδιο διάστημα καταγράφηκε η υψηλότερη μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών. Τα νεαρά αρσενικά ήταν επίσης περισσότερο δραστήρια από τα γηραιότερα του ίδιου φύλου, αλλά λιγότερο δραστήρια από τα αντίστοιχα θηλυκά σε όλες τις ηλικίες.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής μπορούν να χρησιμοποιηθούν με στόχο της κατανόησης της συμπεριφοράς των ενηλίκων, της μύγας της Μεσογείου, κατά την διάρκεια του 24ώρου και για όλη την διάρκεια ζωής τους. Ο συνδυασμός της δραστηριότητας, της επιβίωσης και της ωοπαραγωγής δείχνει τον καταμερισμό των συμπεριφορών στην διάρκεια της ημέρας, σε όλο το φάσμα της επιβίωσης. Με βάση την επένδυση των ποσοτήτων ενέργειας σε καθεμία από τις συμπεριφορές, αποσαφηνίζεται η μεταβολή τους σε σχέση την ηλικία και την διατροφή. Η ποιότητα της τροφής που εφαρμόζεται, επιδρά καθοριστικά στα δημογραφικά χαρακτηριστικά. Το σύστημα LAM25system μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταγραφή της ημερήσιας δραστηριότητας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, σε όλη την διάρκεια της ζωής τους και σε ευρύ φάσμα ειδών και οικογενειών άλλων εντόμων, σύμφωνα με τον τρόπο που περιγράφεται στην παρούσα διατριβή. Τα αποτελέσματα μπορούν να φανούν χρήσιμα στην κατανόηση της λειτουργικής γήρανσης και των αλλαγών που επιφέρει στην καθημερινή συμπεριφορά του οργανισμού. Επίσης οι ώρες και οι ημέρες ζωής που το έντομο είναι περισσότερο δραστήριο μπορούν χρησιμοποιηθούν στην εφαρμογή στρατηγικών φυτοπροστασίας και προγραμμάτων εξαπόλυσης στείρων εντόμων.

Βιβλιογραφία

- Aluja, M., Rull, J., Sivinski, J., Trujillo, G., & Pérez-Staples, D. (2009). Male and female condition influence mating performance and sexual receptivity in two tropical fruit flies (Diptera: Tephritidae) with contrasting life histories. *Journal of Insect Physiology*, *55*(12), 1091–1098. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.07.012>
- Armisen, R., & Galatas, F. (2009). Agar. In *Handbook of Hydrocolloids: Second Edition* (pp. 82–107). <https://doi.org/10.1533/9781845695873.82>
- Barry, J. D., Susan B, Julia, Morse, & Joseph G. (2007). Effect of adult diet on longevity of sterile Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, *90*(4), 650-655. <https://doi.org/10.1653/0015>
- Bertolini, E., Kistenpfennig, C., Menegazzi, P., Keller, A., Koukidou, M., & Helfrich-Förster, C. (2018). The characterization of the circadian clock in the olive fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) reveals a Drosophila-like organization. *Scientific Reports*, *8*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19255-8>
- Bochicchio, P. A., Pérez, M. M., Quesada-Allué, L. A., & Rabossi, A. (2017). Poor geotaxis correlated with haematoporphyrin-induced peroxidation of brain lipids as a predictor of Medfly longevity reduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *164*(2), 131–140. <https://doi.org/10.1111/eea.12597>
- Bonizzoni, M., Gomulski, L. M., Mossinson, S., Guglielmino, C. R., Malacrida, A. R., Yuval, B., & Gasperi, G. (2006). Is polyandry a common event among Wild Populations of the Pest *Ceratitis capitata*. *Journal of Economic Entomology*, *99*(4), 1420–1429. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.4.1420>
- Bonizzoni, M., Katsoyannos, B. I., Marguerie, R., Guglielmino, C. R., Gasperi, G., Malacrida, A., & Chapman, T. (2002). Microsatellite analysis reveals remating by wild Mediterranean fruit fly females, *Ceratitis capitata*. *Molecular Ecology*, *11*(10), 1915-1921.
- Bragard, C., Dehnen-Schmutz, K., Di Serio, F., Gonthier, P., Jacques, M. A., Jaques Miret, J. A., ... MacLeod, A. (2020). Pest categorisation of non-EU Tephritidae. *EFSA Journal*, *18*(1). <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2020.5931>
- Canato, C. M., Sésé, F., & Zucoloto, R. (1998). Feeding behavior of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae): Influence of carbohydrate ingestion. In *Journal of Insect Physiology*. *44*(2), 149-155.
- Carey, J. R. (1993). *Applied demography for biologists: with special emphasis on insects*. Oxford University Press.
- Carey, J. R., & Roach, D. A. (2020). *Biodemography: An Introduction to Concepts and Methods*. Princeton University Press.
- Carey, J. R. (1984). Host-specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Ecological Entomology*, *9*(3), 261-270.
- Carey, J. R., Liedo, P., Muller, H. G., Wang, J. L., & Vaupel, J. W. (1998a). Dual modes of aging in Mediterranean fruit fly females. *Science*, *281*(5379), 996-998.

- Carey, J. R. (2001). Insect biodemography. *Annual Review of Entomology*, Vol. 46, pp. 79–110. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.46.1.79>
- Carey, J. R., Liedo, P., Harshman, L., Liu, X., Muller, H.-G., & Partridge, L. (2002a). Food Pulses Increase Longevity and Induce Cyclical Egg Production in Mediterranean Fruit. In *Wang Source: Functional Ecology*. 16(3), 313-325.
- Carey, J. R., Liedo, P., Harshman, L., Zhang, Y., Muller, H.-G., Partridge, L., & Wang, J.-L. (2002b). Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. In *Aging Cell*, 1(2), 140-148.
- Carey, J. R. (2011). Biodemography of the Mediterranean fruit fly: Aging, longevity and adaptation in the wild. *Experimental Gerontology*, 46(5), 404–411. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.09.009>
- Carey, J. R., & Molleman, F. (2010). Reproductive aging in tephritid fruit flies. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1204, 139–148. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05530.x>
- Carey, J. R., Papadopoulos, N., Kouloussis, N., Katsoyannos, B., Muller, H. G., Wang, J. L., & Tseng, Y. K. (2006). Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Experimental Gerontology*, 41(1), 93–97. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.09.014>
- Carey, J. R. (1982). Demography and population dynamics of the Mediterranean fruit fly. In *Ecological Modelling*, 16(2-4), 125-150.
- Carey, J. R., Liedo, P., Muller, H. G., Wang, J. L., & Chiou, J. M. (1999). Mortality oscillations induced by periodic starvation alter sex-mortality differentials in Mediterranean fruit flies. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 54(10), B424-B431.
- Carey, J. R., Liedo, P., Muller, H. G., Wang, J. L., & Chiou, J. M. (1998). Relationship of age patterns of fecundity to mortality, longevity, and lifetime reproduction in a large cohort of Mediterranean fruit fly females. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 53(4), B245-B251. <https://academic.oup.com/biomedgerontology/article/53A/4/B245/592636>
- Carey, J. R., Liedo, P., Orozco, D., Tatar, M., & Vaupel, J. W. (1995). A Male-Female Longevity Paradox in Medfly Cohorts. In *Source: Journal of Animal Ecology* 107-116.
- Carey, J.R., Liedo, P., Orozco, D., Vaupel, J.W. (1992) Slowing of mortality rates at older ages in large Medfly cohorts. *Science*. 1992. October 16;258(5081):457–61. [10.1126/science.1411540](https://doi.org/10.1126/science.1411540) - DOI - PubMed.
- Catterson, J. H., Knowles-Barley, S., James, K., Heck, M. M. S., Harmar, A. J., & Hartley, P. S. (2010). Dietary modulation of *Drosophila* sleep-wake behaviour. *PLoS ONE*, 5(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012062>

- Chapman, T., Miyatake, T., Smith, H. K., & Partridge, L. (1998). Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 265(1408), 1879–1894. <https://doi.org/10.1098/rspb.1998.0516>
- Chang, C. L., Albrecht, C., El-Shall, S. S., & Kurashima, R. (2001). Adult reproductive capacity of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a chemically defined diet. *Annals of the Entomological Society of America*, 94(5), 702-706.
- Chiu, J. C., Kaub, K., Zou, S., Liedo, P., Altamirano-Robles, L., Ingram, D., & Carey, J. R. (2013). Deleterious effect of suboptimal diet on rest-activity cycle in *Anastrepha ludens* manifests itself with age. *Scientific Reports*, 3.1773. <https://doi.org/10.1038/srep01773>
- Davidowitz, G., D'Amico, L. J., & Nijhout, H. F. (2004). The effects of environmental variation on a mechanism that controls insect body size. *Evolutionary Ecology Research*, 6(1), 49-62.
- Davies, E., Huang, Y., Harper, J. B., Hook, J. M., Thomas, D. S., Burgar, I. M., & Lillford, P. J. (2010). Dynamics of water in agar gels studied using low and high resolution ¹H NMR spectroscopy. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(12), 2502–2507. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02448.x>
- Davies, S., Kattel, R., Bhatia, B., Petherwick, A., & Chapman, T. (2005). The effect of diet, sex and mating status on longevity in Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*), Diptera: Tephritidae. *Experimental Gerontology*, 40(10), 784–792. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.07.009>
- De Meyer, M., Copeland, R. S., Wharton, R. A., McPheron, B. A., & Barnes, B. N. (2002, May). On the geographic origin of the Medfly *Ceratitis capitata* (Wiedemann)(Diptera: Tephritidae). In *Proceedings of the 6th International Fruit Fly Symposium, Stellenbosch, South Africa* (pp. 45-53).
- De Souza, H. M. L., Matioli, S. R., & de Souza, W. N. (1988). The adaptation process of *Ceratitis capitata* to the laboratory analysis of life-history traits. *Entomologia experimentalis et applicata*, 49(3), 195-201.
- Detels, R., & Tan, C. C. (Eds.). (2015). Oxford textbook of global public health Oxford University Press, (2015) 3, 718-735. USA.
- Diamantidis, A. D., Carey, J. R., Nakas, C. T., & Papadopoulos, N. T. (2011). Population-specific demography and invasion potential in Medfly. *Ecology and Evolution*, 1(4), 479–488. <https://doi.org/10.1002/ece3.33>
- Diamantidis, A. D., Ioannou, C. S., Nakas, C. T., Carey, J. R., & Papadopoulos, N. T. (2020). Differential response to larval crowding of a long- and a short-lived Medfly biotype. *Journal of Evolutionary Biology*, 33(3), 329–341. <https://doi.org/10.1111/jeb.13569>
- Diamantidis, A. D., Papadopoulos, N. T., & Carey, J. R. (2008). Medfly populations differ in diel and age patterns of sexual signalling. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 128(3), 389–397. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00730.x>
- Diamantidis, A. D., Papadopoulos, N. T., Nakas, C. T., Wu, S., Müller, H.-G.,

- & Carey, J. R. (2009). Life history evolution in a globally invading tephritid: patterns of survival and reproduction in Medflies from six world regions. *Biological journal of the Linnean Society*, 97(1), 106-117.
- Dionysopoulou, N. K., Papanastasiou, S. A., Kyritsis, G. A., & Papadopoulos, N. T. (2020). Effect of host fruit, temperature and Wolbachia infection on survival and development of *Ceratitis capitata* immature stages. *PLoS ONE*, 15(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229727>
- Dominiak, B. C., Fanson, B. G., Collins, S. R., & Taylor, P. W. (2014). Automated locomotor activity monitoring as a quality control assay for mass-reared tephritid flies. *Pest Management Science*, 70(2), 304–309. <https://doi.org/10.1002/ps.3559>
- Donelson, N., Kim, E. Z., Slawson, J. B., Vecsey, C. G., Huber, R., & Griffith, L. C. (2012). High-resolution positional tracking for long-term analysis of *Drosophila* sleep and locomotion using the “tracker” program. *PLoS One*, 7(5). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037250>
- Dukas, R., Prokopy, R. J., & Duan, J. J. (2001). Effects of larval competition on survival and growth in Mediterranean fruit flies. *Ecological Entomology*, 26(6), 587-593.
- Duyck, P. F., & Quilici, S. (2002). Survival and development of different life stages of three *Ceratitis* spp. (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures. *Bulletin of Entomological Research*, 92(6), 461–469. <https://doi.org/10.1079/ber2002188>
- Economopoulos, A. P., & Judt, S. (1989). Artificial rearing of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Size of oviposition holes. *Journal of economic entomology*, 82(2), 668-674.
- Edgar, B. A. (2006). How flies get their size: Genetics meets physiology. *Nature Reviews Genetics*, Vol. 7, pp. 907–916. <https://doi.org/10.1038/nrg1989>
- Fanson, B. G., Petterson, I. E., & Taylor, P. W. (2013). Diet quality mediates activity patterns in adult Queensland fruit fly (*Bactrocera tryoni*). *Journal of Insect Physiology*, 59(7), 676–681. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2013.04.005>
- Fanson, B. G., Yap, S., & Taylor, P. W. (2012). Geometry of compensatory feeding and water consumption in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 215(5), 766–773. <https://doi.org/10.1242/jeb.066860>
- Fernandez, J. R., Grant, M. D., Tulli, N. M., Karkowski, L. M., & McClearn, G. E. (1999). Differences in locomotor activity across the lifespan of *Drosophila melanogaster*☆. *Experimental Gerontology*, 34(5), 621-631.
- Fimiani, P. (1989). Mediterranean region. *Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control* (ed. by A. S. Robinson and G. Hooper), Vol 3A, pp. 39-50. Elsevier, The Netherlands
- Gaskin, T., Futerman, P., & Chapman, T. (2002). Increased density and male-male interactions reduce male longevity in the medfly, *Ceratitis capitata*. *Animal Behaviour*, 63(1), 121–129. <https://doi.org/10.1006/anbe.2001.1896>

- Gavriel, S., Gazit, Y., & Yuval, B. (2009). Remating by female Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*, Diptera: Tephritidae): Temporal patterns and modulation by male condition. *Journal of Insect Physiology*, 55(7), 637–642. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.04.002>
- Gerofotis, C. D., Kouloussis, N. A., Koukougianidou, C., Papadopoulos, N. T., Damos, P., Koveos, D. S., & Carey, J. R. (2019). Age, sex, adult and larval diet shape starvation resistance in the Mediterranean fruit fly: an ecological and gerontological perspective. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47010-0>
- Gibbs, A. G., Louie, A. K., & Ayala, J. A. (1998). Effects of temperature on cuticular lipids and water balance in a desert *Drosophila*: is thermal acclimation beneficial?. *Journal of Experimental Biology*, 201(1), 71-80.
- Gibbs, A. G., & Matzkin, L. M. (2001). Evolution of water balance in the genus *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology*, 204(13), 2331-2338.
- Girardot, F., Lasbleiz, C., Monnier, V., & Tricoire, H. (2006). Specific age related signatures in *Drosophila* body parts transcriptome. *BMC Genomics*, 7. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-69>
- Gomulski, L. M., Dimopoulos, G., Xi, Z., Scolari, F., Gabrieli, P., Siciliano, P., ... Gasperi, G. (2012). Transcriptome profiling of sexual maturation and mating in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *PLoS ONE*, 7(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030857>
- Grotewiel, M. S., Martin, I., Bhandari, P., & Cook-Wiens, E. (2005). Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing Research Reviews*, Vol. 4, pp. 372–397. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2005.04.001>
- Harwood, J. F., Chen, K., Muller, H. G., Wang, J. L., Vargas, R. I., & Carey, J. R. (2013). Effects of diet and host access on fecundity and lifespan in two fruit fly species with different life-history patterns. *Physiological Entomology*, 38(1), 81–88. <https://doi.org/10.1111/phen.12006>
- He, Y., & Jasper, H. (2014). Studying aging in *Drosophila*. *Methods*, 68(1), 129–133. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2014.04.008>
- Hendrichs, J., Katsoyannos, B. I., Papaj, D. R., & Prokopy, R. J. (1991). Sex differences in movement between natural feeding and mating sites and tradeoffs between food consumption, mating success and predator evasion in Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Oecologia*, 86(2), 223-231.
- Hendrichs, J., & Hendrichs, M. A. (1990). Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature: location and diel pattern of feeding and other activities on fruiting and nonfruiting hosts and nonhosts. *Annals of the Entomological Society of America*, 83(3), 632-641.
- Iliadi, K. G., & Boulianne, G. L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1197, 9–18. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05372.x>
- Joachim-Bravo, I. S., Anjos, C. S., & Costa, A. M. (2009). The role of protein in the sexual behaviour of males of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): mating success, copula duration and number of copulations. *Zoologia (Curitiba)*, 26(3), 407-412.

- Kaspi, R., Mossinson, S., Drezner, T., Kamensky, B., & Yuval, B. (2002). Effects of larval diet on development rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology*, 27(1), 29-38.
- Kaspi, R., Taylor, P. W., & Yuval, B. (2000). Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology*, 25(3), 279-284.
- Koh, K., Evans, J. M., Hendricks, J. C., & Sehgal, A. (2006). A *Drosophila* model for age-associated changes in sleep: wake cycles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(37), 13843-13847.
- Kouloussis, N. A., Damos, P. T., Ioannou, C. S., Tsitsoulas, C., Papadopoulou, N. T., Nestel, D., & Koveos, D. S. (2017). Age related assessment of sugar and protein intake of *Ceratitis capitata* in ad libitum conditions and modeling its relation to reproduction. *Frontiers in Physiology*, 8, 271. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00271>
- Koveos, D. S., Broufas, G. D., Kiliaraki, E. K., & Tzanakakis, M. E. (1997). Effect of prevention of flight on ovarian maturation and reproductive diapause in the olive fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 90(3), 337-340.
- Krainacker, D. A., Carey, J. R., & Vargas, R. I. (1987). Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Oecologia*, 73(4), 583-590.
- Le Bourg, E. (1987). The rate of living theory. Spontaneous locomotor activity, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. *Experimental gerontology*, 22(5), 359-369.
- Lee, K. P., Simpson, S. J., Clissold, F. J., Brooks, R., Ballard, J. W. O., Taylor, P. W., ... & Raubenheimer, D. (2008). Lifespan and reproduction in *Drosophila*: new insights from nutritional geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(7), 2498-2503.
- Lehmann, F. O., Dickinson, M. H., & Staunton, J. (2000). The scaling of carbon dioxide release and respiratory water loss in flying fruit flies (*Drosophila* spp.). *Journal of Experimental Biology*, 203(10), 1613-1624.
- Leppla, N. C., Huettel, M. D., Chambers, D. L., Ashley, T. R., Miyashita, D. H., Wong, T. T. Y., & Harris, E. J. (1983). Strategies for colonization and maintenance of the Mediterranean fruit fly. *Entomologia experimentalis et applicata*, 33(1), 89-6.
- Liedo, P., De Leon, E., Barrios, M. I., Valle-Mora, J. F., & Ibarra, G. (2002). Effect of age on the mating propensity of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 85(1), 94-101.
- Lighton, J. R. (1994). Discontinuous ventilation in terrestrial insects. *Physiological Zoology*, 67(1), 142-162.
- Liquido, N.J., Shinoda, L.A. & Cunningham, R.T., (1991). Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera, Tephritidae) an annotated world review, Vol. 83: Miscellaneous Publications 77. Entomological Society of America (ed., Lanham, MD) pp. 1863-1878

- Liu, C., Haynes, P. R., Donelson, N. C., Aharon, S., & Griffith, L. C. (2015). Sleep in populations of *Drosophila melanogaster*. *ENeuro*, 2(4). <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0071-15.2015>
- Malacrida, A. R., Gomulski, L. M., Bonizzoni, M., Bertin, S., Gasperi, G., & Guglielmino, C. R. (2007). Globalization and fruitfly invasion and expansion: The Medfly paradigm. *Genetica*, Vol. 131, pp. 1–9. <https://doi.org/10.1007/s10709-006-9117-2>
- Malacrida, A. R., Marinoni, F., Torti, C., Gomulski, L. M., Sebastiani, F., Bonvicini, C., ... Guglielmino, C. R. (1998). Genetic aspects of the worldwide colonization process of *Ceratitis capitata*. *Journal of Heredity*, 89(6), 501-507.
- Martin, J. R. (2003). Locomotor activity: A complex behavioural trait to unravel. *Behavioural Processes*, 64(2), 145–160. [https://doi.org/10.1016/S0376-6357\(03\)00132-3](https://doi.org/10.1016/S0376-6357(03)00132-3)
- Muller, H. G., Wang, J. L., Capra, W. B., Liedo, P., & Carey, J. R. (1997). Early mortality surge in protein-deprived females causes reversal of sex differential of life expectancy in Mediterranean fruit flies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(6), 2762-2765.
- Muller, H. G., Carey, J. R., Wu, D., Liedo, P., & Vaupel, J. W. (2001). Reproductive potential predicts longevity of female Mediterranean fruitflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 268(1466), 445–450. <https://doi.org/10.1098/rspb.2000.1370>
- Muller, H. G., Wu, S., Diamantidis, A. D., Papadopoulos, N. T., & Carey, J. R. (2009). Reproduction is adapted to survival characteristics across geographically isolated Medfly populations. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1677), 4409–4416. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1461>
- Mumford, J. D., Driouchi, W., Enkerlin, W., Carlson, G. A., & EJ, B. (1995). Economic evaluation of damaged caused by, and methods of control of, the Mediterranean fruit fly in the Maghreb. *IAEA-TECDOC-830*, International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria.
- Navarro-Campos, C., Martínez-Ferrer, M. T., Campos, J. M., Fibla, J. M., Alcaide, J., BARGUES, L., ... Garcia-Mari, F. (2011). The influence of host fruit and temperature on the body size of adult *Ceratitis capitata* (diptera: Tephritidae) under laboratory and field conditions. *Environmental Entomology*, 40(4), 931–938. <https://doi.org/10.1603/EN10302>
- Nestel, D., & Nemny-Lavy, E. (2008). Nutrient balance in Medfly, *Ceratitis capitata*, larval diets affects the ability of the developing insect to incorporate lipid and protein reserves. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 126(1), 53–60. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2007.00639.x>
- Nestel, D., Nemny-Lavy, E., & Chang, C. L. (2004). Lipid and protein loads in pupating larvae and emerging adults as affected by the composition of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) meridic larval diets. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 56(3), 97–109. <https://doi.org/10.1002/arch.20000>

- Nestel, D., Papadopoulos, N. T., Liedo, P., Gonzales-Ceron, L., & Carey, J. R. (2005). Trends in lipid and protein contents during Medfly aging: An harmonic path to death. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 60(3), 130–139. <https://doi.org/10.1002/arch.20091>
- Niyazi, N., Lauzon, C. R., & Shelly, T. E. (2004). Effect of probiotic adult diets on fitness components of sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) under laboratory and field cage conditions. *Journal of Economic Entomology*, 97(5), 1570–1580. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-97.5.1570>
- Novoseltsev, V. N., Carey, R. J., Novoseltseva, J. A., Papadopoulos, N. T., Blay, S., & Yashin, A. I. (2004). Systemic mechanisms of individual reproductive life history in female Medflies. *Mechanisms of Ageing and Development*, 125(1), 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2003.10.007>
- Papachristos, D. P., & Papadopoulos, N. T. (2009). Are citrus species favorable hosts for the Mediterranean fruit fly? A demographic perspective. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 132(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00861.x>
- Papadopoulos N. T. (2008). Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: *Capinera J ed. Encyclopedia of entomology: Encyclopedia of Entomology*. (2008). 2nd Edition. 2318-2322.
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., & Carey, J. R. (2002). Demographic parameters of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) reared in apples. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(5), 564–569. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2002\)095\[0564:DPOTMF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2002)095[0564:DPOTMF]2.0.CO;2)
- Papadopoulos, N. T., Carey, J. R., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Müller, H. G., & Liu, X. (2002b). Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitidis capitata*). *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 269(1501), 1633–1637. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2078>
- Papadopoulos, N. T., Liedo, P., Muller, H. G., Wang, J. L., Molleman, F., & Carey, J. R. (2010). Cost of reproduction in male Medflies: The primacy of sexual courting in extreme longevity reduction. *Journal of Insect Physiology*, 56(3), 283–287. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2009.10.014>
- Papadopoulos, N. T., Plant, R. E., & Carey, J. R. (2013). From trickle to flood: The large-scale, cryptic invasion of California by tropical fruit flies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280(1768). <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.1466>
- Papadopoulos, N. T., Carey, J. R., Katsoyannos, B. I., & Kouloussis, N. A. (1996). Overwintering of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America*, 89(4), 526-534.
- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Carey, J. R., Muller, H. G., & Zhang, Y. (2004). High sexual signalling rates of young individuals predict extended life span in male Mediterranean fruit flies. *Oecologia*, 138(1), 127-134.

- Papadopoulos, N. T., Katsoyannos, B. I., Kouloussis, N. A., Economopoulos, A. P., & Carrey, J. R. (1998). Effect of adult age, food, and time of day on sexual calling incidence of wild and mass-reared *Ceratitis capitata* males. *Entomologia experimentalis et applicata*, 89(2), 175-182.
- Papanastasiou, S. A., Carey, J. R., & Papadopoulos, N. T. (2019). Effects of early-life protein starvation on longevity and sexual performance of male Medfly. *PLoS ONE*, 14(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219518>
- Papanastasiou, S. A., Nakas, C. T., Carey, J. R., & Papadopoulos, N. T. (2013). Condition-dependent effects of mating on longevity and fecundity of female Medflies: The interplay between nutrition and age of mating. *PLoS ONE*, 8(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0070181>
- Pfeiffenberger, C., Lear, B. C., Keegan, K. P., & Allada, R. (2010). Locomotor activity level monitoring using the *Drosophila* activity monitoring (DAM) system. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2010(11). <https://doi.org/10.1101/pdb.prot5518>
- Piper, M. D.W., Wong, R., Grandison, R. C., Bass, T. M., Martinez, P. M., & Partridge, L. (2010). Water-independent effects of dietary restriction in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107 (14). <https://doi.org/10.1073/pnas.0914686107>
- Piper, M. D., & Partridge, L. (2007). Dietary restriction in *Drosophila*: delayed aging or experimental artefact?. *PLoS genetics*, 3(4), e57. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen>
- Plácido-Silva, M. D. C., Silva Neto, A. M. D., Zucoloto, F. S., & Joachim-Bravo, I. S. (2006). Effects of different protein concentrations on longevity and feeding behavior of two adult populations of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, 35(6), 747-752.
- Prenter, J., Weldon, C. W., & Taylor, P. W. (2013). Age-related activity patterns are moderated by diet in Queensland fruit flies *Bactrocera tryoni*. *Physiological Entomology*, 38(3), 260–267. <https://doi.org/10.1111/phen.12023>
- Pujol-Lereis, L. M., Rabossi, A., & Quesada-Allué, L. A. (2012). Lipid profiles as indicators of functional senescence in the Medfly. *Experimental Gerontology*, 47(6), 465–472. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2012.04.001>
- Rakshit, K., Krishnan, N., Guzik, E. M., Pyza, E., & Giebultowicz, J. M. (2012). Effects of aging on the molecular circadian oscillations in *Drosophila*. *Chronobiology International*, 29(1), 5–14. <https://doi.org/10.3109/07420528.2011.635237>
- Ram, K. R., & Chowdhuri, D. K. (2013). *Drosophila*: A Model for Biotechnologists. In *Animal Biotechnology: Models in Discovery and Translation* (pp. 3–19). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00001-8>
- Ratliff, E. P., Mauntz, R. E., Kotzebue, R. W., Gonzalez, A., Achal, M., Barekat, A., ... Finley, K. D. (2015). Aging and autophagic function influences the progressive decline of adult *Drosophila* behaviors. *PLoS ONE*, 10(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132768>

- Ricalde, M. P., Nava, D. E., Loeck, A. E., & Donatti, M. G. (2012). Temperature-dependent development and survival of Brazilian populations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, from tropical, subtropical and temperate regions. *Journal of Insect Science*, 12(1), 33.
- Roff, D. (2001). Life History, Evolution of. In *Encyclopedia of Biodiversity: Second Edition* (pp. 631–641). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384719-5.00087-3>
- Romanyukha, A. A., Carey, J. R., Karkach, A. S., & Yashin, A. I. (2004). The impact of diet switching on resource allocation to reproduction and longevity in Mediterranean fruitflies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 271(1545), 1319–1324. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2719>
- Rosato, E., & Kyriacou, C. P. (2006). Analysis of locomotor activity rhythms in *Drosophila*. *Nature Protocols*, 1(2), 559–568. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.79>
- Sarakatsanou, A., Diamantidis, A. D., Papanastasiou, S. A., Bourtzis, K., & Papadopoulos, N. T. (2011). Effects of Wolbachia on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 135(7), 554–563. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0418.2011.01610.x>
- Shelly, T. E., Kennelly, S. S., & McInnis, D. O. (2002a). Effect of adult diet on signaling activity, mate attraction, and mating success in male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 85(1), 150-155. <https://doi.org/10.1653/0015>
- Shelly, T. E. (2018). Sexual selection on leks: a fruit fly primer. *Journal of Insect Science*, 18(3), 9. <https://doi.org/10.1093/jisesa/iey048>
- Shelly, Todd E., Edu, J., & Pahio, E. (2011). Female Medflies mate selectively with young males but gain no apparent fitness benefits. *Journal of Insect Behavior*, 24(1), 55–66. <https://doi.org/10.1007/s10905-010-9236-6>
- Shelly, T. E., & Kennelly, S. (2002b). Influence of male diet on male mating success and longevity and female remating in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Florida Entomologist*, 85(4), 572-579. <https://doi.org/10.1653/0015>
- Shelly, T. E., & McInnis, D. O. (2003). Influence of adult diet on the mating success and survival of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) from two mass-rearing strains on field-caged host trees. *Florida Entomologist*, 86(3), 340-344. <https://doi.org/10.1653/0015>
- Shuttleworth, L. A., Khan, M. A. M., Collins, D., Osborne, T., & Reynolds, O. L. (2020). Wild bacterial probiotics fed to larvae of mass-reared Queensland fruit fly [*Bactrocera tryoni* (Froggatt)] do not impact long-term survival, mate selection, or locomotor activity. *Insect Science*, 27(4), 745–755. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12670>
- Simon, A. F., Liang, D. T., & Krantz, D. E. (2006). Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(7), 647–651. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.02.006>

- Skorupa, D. A., Dervisefendic, A., Zwiener, J., & Pletcher, S. D. (2008). Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Aging Cell*, 7(4), 478–490. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2008.00400.x>
- Sollai, G., Solari, P., & Crnjar, R. (2020). Differences in the olfactory sensitivity of *Ceratitis capitata* to headspace of some host plants in relation to sex, mating condition and population. *Diversity*, 12(5). <https://doi.org/10.3390/D12050207>
- Sohal, R. S., & Runnels, J. H. (1986). Effect of experimentally-prolonged life span on flight performance of houseflies. *Experimental gerontology*, 21(6), 509-514.
- Sohal, R. S., & Donato, H. (1978). Effects of experimentally altered life spans on the accumulation of fluorescent age pigment in the housefly, *Musca domestica*. *Experimental gerontology*, 13(5), 335-341.
- Phillips, G. O., Stephen, A. M., & Williams, P. A. (Eds.). (2006). *Food polysaccharides and their applications*. Taylor & Francis.
- Toroser, D., Orr, W. C., & Sohal, R. S. (2007). Carbonylation of mitochondrial proteins in *Drosophila melanogaster* during aging. *Biochemical and biophysical research communications*, 363(2), 418-424.
- Umezaki, Y., Yoshii, T., Kawaguchi, T., Helfrich-Förster, C., & Tomioka, K. (2012). Pigment-dispersing factor is involved in age-dependent rhythm changes in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Rhythms*, 27(6), 423–432. <https://doi.org/10.1177/0748730412462206>
- Vargas, R. I., & Carey, J. R. (1989). Comparison of demographic parameters for wild and laboratory-adapted Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 82(1), 55-59.
- Vermeulen, C. J., Cremers, T. I. F. H., Westerink, B. H. C., Van De Zande, L., & Bijlsma, R. (2006). Changes in dopamine levels and locomotor activity in response to selection on virgin lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Mechanisms of Ageing and Development*, 127(7), 610–617. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2006.02.004>
- Warburg, M. S., & Yuval, B. (1997). Effects of energetic reserves on behavioral patterns of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Oecologia*, 112(3), 314-319.
- Waterson, M. J., Chung, B. Y., Harvanek, Z. M., Ostojic, I., Alcedo, J., & Pletcher, S. D. (2014). Water sensor ppk28 modulates *Drosophila* lifespan and physiology through AKH signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(22), 8137–8142. <https://doi.org/10.1073/pnas.1315461111>
- Weldon, C. W., Boardman, L., Marlin, D., & Terblanche, J. S. (2016). Physiological mechanisms of dehydration tolerance contribute to the invasion potential of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) relative to its less widely distributed congeners. *Frontiers in Zoology*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s12983-016-0147-z>

- Weldon, C. W., Nyamukondiwa, C., Karsten, M., Chown, S. L., & Terblanche, J. S. (2018). Geographic variation and plasticity in climate stress resistance among southern African populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28259-3>
- Weldon, C. W., Prenter, J., & Taylor, P. W. (2010). Activity patterns of Queensland fruit flies (*Bactrocera tryoni*) are affected by both mass-rearing and sterilization. *Physiological Entomology*, 35(2), 148–153. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00726.x>
- White, I.M., and Elson-Harris, M.M. (1992). Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics. CAB, Oxon, UK.
- William, W. J., Carvalho, G. B., Mak, E. M., Noelle, N., Fang, A. Y., Liang, J. C., ... & Benzer, S. (2007). Prandiology of *Drosophila* and the CAFE assay. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(20), 8253-8256.
- William, W. J., Carvalho, G. B., Zid, B. M., Mak, E. M., Brummel, T., & Benzer, S. (2009). Water-and nutrient-dependent effects of dietary restriction on *Drosophila* lifespan. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(44), 18633-18637.
- Yuval, B., Kaspi, R. O. Y., Shloush, S., & Warburg, M. S. (1998). Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology*, 23(2), 211-215.
- Yuval, B., Kaspi, R., Field, S. A., Blay, S., & Taylor, P. (2002). Effects of post-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 85(1), 165-170. <https://doi.org/10.1653/0015>
- Zhang, Y., Muller, H. G., Carey, J. R., & Papadopoulos, N. T. (2006). Behavioral trajectories as predictors in event history analysis: male calling behavior forecasts Medfly longevity. *Mechanisms of ageing and development*, 127(8), 680-686.
- Zhao, J., Warman, G. R., & Cheeseman, J. F. (2018). Clock gene expression and locomotor activity predict death in the last days of life in *Drosophila melanogaster*. *Scientific Reports*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30323-x>
- Zou, S., Liedo, P., Altamirano-Robles, L., Cruz-Enriquez, J., Morice, A., Ingram, D. K., ... Carey, J. R. (2011). Recording lifetime behavior and movement in an invertebrate model. *PLoS ONE*, 6(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0018151>
- Zucca, P., Fernandez-Lafuente, R., & Sanjust, E. (2016). Agarose and its derivatives as supports for enzyme immobilization. *Molecules*, 21(11), 1577.
- Zucoloto, F. S. (1987). Feeding habits of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae): can larvae recognize a nutritionally effective diet?. *Journal of Insect Physiology*, 33(5), 349-353.

- Διαμαντίδης, Α., (2009). Μελέτη της βιοοικολογίας και της συμπεριφοράς διαφορετικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Βόλος
- Ιωάννου, Χ., (2005). Επίδραση πτητικών ουσιών από καρπούς πορτοκαλιού στην ωτοκία και άλλες βιολογικές παραμέτρους της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Μεταπτυχιακή Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Θεσσαλονίκη.
- Παπαδόπουλος, Α., (2019). Διερεύνηση των σχέσεων της παραλλακτικότητας στην ανάπτυξη των ανηλικών σταδίων της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων. Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Βόλος
- Παπαδόπουλος, Ν.Θ. (1999). Μελέτη της Βιολογίας και Οικολογίας της Μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) στη Βόρεια Ελλάδα. Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Θεσσαλονίκη.
- Παπαναστασίου, Σ. (2014). Επίδραση της ηλικίας και άλλων παραγόντων στη συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Βόλος
- Τζανακάκης, Μ.Ε. & Κατσόγιαννος, Β.Ι., (2003). Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. ΑγροΤύπος, Αθήνα.

Ηλεκτρονική πηγή 1: <https://gd.eppo.int/taxon/CERTCA>

Ηλεκτρονική πηγή 2: Merriam-Webster. (2020). Biodemography. *In Merriam-Webster.com dictionary*. Retrieved January 26, 2021, from <https://www.merriam-webster.com/dictionary/biodemography>